

UNIVERSITE DE LYON I
UNITE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE D'ODONTOLOGIE

Année 1977

THESE n° 43.12.77.03

THÈSE

pour le DIPLOME DE DOCTEUR DE 3^e CYCLE
EN SCIENCES ODONTOLOGIQUES

présentée et soutenue publiquement le 29 Septembre 1977

par

MARCILLY Alain

**CONTRIBUTION A L'ETUDE
DU POUVOIR ANTI-BACTERIEN
DE LA SALIVE HUMAINE.**

JURY

MM. A. BERTOYE

J. DUMONT

H. MAGLOIRE

Président

Assesseur

Assesseur

UNIVERSITE DE LYON I
UNITE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE D'ODONTOLOGIE

Année 1977

THESE n° 43.12.77.03

THÈSE

pour le DIPLOME DE DOCTEUR DE 3^e CYCLE
EN SCIENCES ODONTOLOGIQUES

présentée et soutenue publiquement le 29 Septembre 1977

par

MARCILLY Alain

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU POUVOIR ANTI-BACTERIEN DE LA SALIVE HUMAINE.

JURY

MM. A. BERTOYE	Président
J. DUMONT	Assesseur
H. MAGLOIRE	Assesseur

UNIVERSITY OF LEIDEN
LIBRARY

THESE

1875

THESE

POUR LE DEGRÉ DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR MONSIEUR

LE DOCTEUR EN MÉDECINE

1875

LEIDEN

CONTRIBUTION A L'ETUDE

DU POUVOIR ANTIBACTERIEN

DE LA SALVE HUMAINE



1875

LE DOCTEUR EN MÉDECINE
LE DOCTEUR EN MÉDECINE
LE DOCTEUR EN MÉDECINE

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I

Président de l'Université : Monsieur le Professeur D. GERMAIN
Premier Vice-Président : Monsieur le Professeur E. ELBAZ
Deuxième Vice-Président : Monsieur B. ROUSSET
Troisième Vice-Président : Monsieur R. LOPEZ
Secrétaire Général : Monsieur J. RAMBAUD

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DE L'UNIVERSITE

MEDECINE - GRANGE-BLANCHE - Directeur : Monsieur le Docteur B. SALLE (MCA)
ALEXIS-CARREL Directeur Monsieur le Professeur R. MORNEX
SUD-OUEST Directeur Monsieur le Professeur J. NORMAND
LYON-NORD Directeur Monsieur le Docteur J.P. NEIDHARDT
Directeur
Honoraire : Monsieur le Professeur A. BERTOYE

BIOLOGIE HUMAINE - Directeur : Monsieur le Docteur J.P. REVILLARD (MCA)

TECHNIQUES DE READAPTATION - Directeur : Monsieur le Docteur A. MORGON (MCA)

SCIENCES PHARMACEUTIQUES - Directeur : Monsieur le Professeur BIZOLLON

SCIENCES ODONTOLOGIQUES - Directeur:: Monsieur le Docteur R. VINCENT

INSTITUT REGIONAL D'EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE :

Président du conseil d'UER : Monsieur le Professeur R. GUILLET

Directeur : Monsieur A. MILLON

MATHEMATIQUES - Directeur : Monsieur le Professeur E. COMBET

PHYSIQUE - Directeur : Monsieur le Professeur J. DELMAU

CHIMIE ET BIOCHIMIE - Directeur : Monsieur le Professeur J. HUET

SCIENCES DE LA NATURE - Directeur : Monsieur le Professeur R. GINET

SCIENCES PHYSIOLOGIQUES - Directeur : Mademoiselle le Professeur J.F. WORBE

INSTITUT UNIVERSITAIRE ET TECHNOLOGIE N° 1 - Directeur : Mr le professeur B. POUYET

INSTITUT UNIVERSITAIRE ET TECHNOLOGIE N° 2 - Directeur : M.J. GALLET (Directeur
ENSAM)

OBSERVATOIRE - Directeur : Monsieur MONNET (Astronome Adjoint)

PHYSIQUE NUCLEAIRE - Directeur : Monsieur le Professeur GUSAKOW

MECANIQUE - Directeur : Mademoiselle le Professeur G. COMTE-BELLOT.

Directeur : M. Roger VINCENT - Professeur de catégorie exceptionnelle

Directeur Adjoint : M. Jean PARRET - Professeur de catégorie exceptionnelle

Directeur Adjoint : M. Henri CHAMBAZ - Professeur 2ème grade

PREMIERE SECTION D'ENSEIGNEMENT : PROTHESE

Professeur de catégorie exceptionnelle : M. Jacques BRUGIRARD

Professeur 1er grade : M. Bernard LALLICH - M. Charles MALQUARTI

Professeur 2ème grade: M. André DUMONT - M. Joseph EXBRAYAT
M. Lucien TOURTET - M. Dominique BOIS

DEUXIEME SECTION D'ENSEIGNEMENT : ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE

Professeur 1er grade : M. Jean-Ennemond HESKIA - M. Henri DEPLAGNE

Professeur 2ème grade: M. François BRUNNER - M. Jacques CHASSIGNOL

TROISIEME SECTION D'ENSEIGNEMENT : PEDODONTIE-PREVENTION

Professeur 2ème grade : M. Michel CAUDMONT

QUATRIEME SECTION D'ENSEIGNEMENT : PATHOLOGIE ET THERAPEUTIQUE DENTAIRES

Professeur de catégorie exceptionnelle : M. Roger VINCENT

Professeur 1er grade : M. Louis MATHIEU

Professeur 2ème grade: M. Pierre BERTOIN

CINQUIEME SECTION D'ENSEIGNEMENT : PARODONTOLOGIE

Professeur 2ème grade : M. Georges PERDRIX

SIXIEME SECTION D'ENSEIGNEMENT : DENTISTERIE CONSERVATRICE

Professeur 1er grade : M. Jean POULARD - M. Jean PEROL
M. Robert THOMAS

Professeur 2ème grade: M. Jean BLANC-BENON - M. Henri CHAMBAZ
M. Philippe BONIN - M. Georges LABE

SEPTIEME SECTION D'ENSEIGNEMENT : BIOLOGIE ET MATIERES FONDAMENTALES

Professeur de catégorie exceptionnelle : M. Jean PARRET

Professeur 1er grade : M. Jacques DUMONT

Professeur 2ème grade: M. Paul LIBOUREL - M. Henry MAGLOIRE
M. Henri VINARD

Je dédie ce mémoire

A MES PARENTS

qui trouverons dans ce travail la certitude d'avoir réussi l'éducation de leur fils.

A MA FEMME NICOLE

En hommage au dévouement constant qu'elle a su me témoigner au cours de cette entreprise.

Qu'elle soit remerciée pour les encouragements qu'elle m'a prodigués, l'aide technique qu'elle ne m'a jamais refusée et pour les sacrifices familiaux qu'elle a consentis.

A MES ENFANTS MARIE-CECILE et ALEXANDRE

Pour la joie qu'ils me donnent d'exister.

Avant d'exposer les résultats de notre recherche, nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance :

A Monsieur le Professeur André BERTOYE, qui a accepté courtoisement de nous consacrer un peu de son temps rendu si précieux en raison des hautes responsabilités que ses grandes compétences lui ont valu d'exercer tant au département des maladies infectieuses de l'Hôpital de la Croix-Rousse qu'à l'Institut Pasteur de LYON.

Qu'il soit très vivement remercié de nous faire l'immense honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

A Monsieur le Professeur Jacques DUMONT sans qui rien n'eut été possible. Il a bien voulu nous accueillir au sein de cette université qui nous était étrangère de par notre formation. Il nous a ouvert spontanément les portes de son laboratoire et nous a prodigué sans cesse ses conseils éclairés rendant ainsi possible la réalisation de cette étude dans laquelle nous espérons qu'il trouvera le témoignage de notre profond attachement et de notre gratitude.

A Monsieur le Professeur Henry MAGLOIRE qui nous a fait l'honneur et l'amitié de siéger parmi nos juges. Nous savons que sa modestie naturelle en a souffert mais aussi qu'elle ne se rencontre que chez les hommes de véritable savoir.

Nous sommes honorés de le voir faire partie des membres éminents de notre jury.

Nous tenons également à remercier

Madame BENET Geneviève qui nous a aidé si efficacement
depuis le premier jour ainsi que Madame Chantal BEJAT, et à dédier cet ouvrage

A tous mes Parents et Amis de toujours.

P.L.A.N

INTRODUCTION

GENERALITES

LES GLANDES SALIVAIRES

I

I - EMBRYOLOGIE DES GLANDES SALIVAIRES

II - PHYSIOLOGIE DE LA SALIVATION

- 1 - Innervation parasympathique
- 2 - Innervation sympathique
- 3 - Sécrétion chez l'homme
- 4 - Etude de la sécrétion du Potassium

LA SALIVE

I - PROPRIETES PHYSIQUES

- 1 - Caractères physiques
- 2 - Volume
- 3 - Densité
- 4 - PH
- 5 - Tension superficielle
- 6 - Viscosité
- 7 - Point de congélation

II - COMPOSITION CHIMIQUE

A - LES MATIERES MINERALES

- 1 - Les cations
- 2 - Les anions

B - LES GAZS

C - LES COMPOSES ORGANIQUES

- 1 - Les Sulfocyanures
- 2 - L'urée et l'acide urique
- 3 - Les protides
 - a - les acides aminés
 - b - les glycoprotéines - mucines salivaires
- 4 - Les Glucides
- 5 - Les Lipides
- 6 - Les Vitamines
- 7 - Hormones
- 8 - Enzymes salivaires

III - LES ROLES DE LA SALIVE

A - ROLE DIGESTIF

B - ROLE EXCRETOIRE

C - ROLE ENDOCRINIEN

D - ROLE ANTI-BACTERIEN

- a - rôle mécanique
- b - rôle physico-chimique
- c - principes salivaires

- 1 - Le Lysozyme
- 2 - Inhibines et mutines de DOLD
- 3 - THIOCYANATE et PEROXYDASE
- 4 - Immunoglobulines salivaires
 - a - généralités
 - b - structures des IgA salivaires - IgA sécrétoires
 - 1/ chaines lourdes - chaines α
 - 2/ chaines légères
 - 3/ la pièce sécrétoire (SC-SP)
 - 4/ la pièce J de Jonction
 - 5/ modèle structural de l'IgA de sécrétion.

- c - cinématique de la sécrétion des IgA salivaires
- d - IgA salivaires, caries et parodontopathies

ETUDE PERSONNELLE
RECHERCHE D'UN POUVOIR ANTIBACTERIEN SALIVAIRE
METHODES ET TECHNIQUES

I - CHOIX DES SUJETS D'EXPERIENCES

II - SOUCHES BACTERIENNES UTILISEES

- 1 - Veillonella alcalescens var. Syzygin
- 2 - Actinobacterium israeli
- 3 - Corynebacterium anaerobium
- 4 - Streptococcus mutans - OMZ 175
- 5 - Bifido-bacterium bifidum
- 6 - Plectridium ovalaris

III - MILIEUX UTILISES

- 1 - Gélase VF
- 2 - Milieu coeur-cervelle

IV - PRELEVEMENTS SALIVAIRES

V - TRAITEMENT DE LA SALIVE

- 1 - Filtration
- 2 - Lyophilisation
- 3 - Reconstitution
- 4 - Traitement thermique de la salive

VI - RECHERCHE DU POUVOIR ANTI-BACTERIEN

- 1 - Antibiogramme salivaire
 - a - techniques
 - b - résultats
- 2 - Méthode opacimétrique
 - a - rappel sur la croissance bactérienne et l'opacimétrie
 - b - mise en évidence du pouvoir anti-bactérien de la salive
 - technique
 - résultats
 - conclusions

VII - ACTION DE LA SALIVE EN FONCTION D'UN INDEX PARODONTAL

- 1 - Index parodontal
- 2 - Techniques
- 3 - Résultats
- 4 - Conclusions

VIII - CONCLUSIONS GENERALES

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

La pathologie bucco-dentaire est dominée par deux formes particulières de maladies de la bouche qui relèguent au second plan les autres états morbides de la cavité buccale. Il s'agit de la carie dentaire et des parodontopathies. L'une comme l'autre atteignent l'ensemble de la population mondiale et doivent être considérées en terme d'épidémiologie générale comme des épidémies permanentes (ou des endémies) à l'échelle planétaire. Ces épidémies sont le plus souvent méconnues en raison de la discrétion apparente de leur symptomatologie et parce que le pronostic vital de ces affections est peu souvent posé.

Leur importance est encore augmentée par le fait que jusqu'à ces dernières années les autorités compétentes étaient divisées sur l'étiologie de ces maladies et qu'il était fort difficile de mettre en place une politique cohérente de lutte prophylactique.

Néanmoins, à l'heure actuelle les agents étiologiques directs ainsi que les processus pathogéniques de ces maladies sont mieux connus et l'on peut affirmer qu'ils sont d'origine microbienne.

C'est dire l'importance que revêtent dans l'étude fondamentale de ces maladies les sciences qui s'attachent à étudier la vie des micro-organismes et leur interaction avec les êtres organisés supérieurs qui les abritent.

Ceux-ci dénués de passivité, possèdent, en effet, à l'encontre des agresseurs, un ensemble de défenses dont l'action aboutit à une tentative de maintien de leur intégrité.

C'est dans ce cadre que nous avons essayé d'apporter une modeste contribution à l'étude des pouvoirs anti-bactériens de la salive humaine à l'égard de certains micro-organismes qui participent chez l'homme à l'apparition

ou au développement des parodontopathies.

Ce pouvoir anti-bactérien des sécrétions humaines et en particulier salivaire a suscité les recherches de nombreux auteurs. Déjà KLETZINSKY, en 1852 mentionnait la force antiseptique de la salive (27) ainsi que VALUDA en 1888 (44) et SANARELLI en 1891 (37) qui estimait que la salive humaine possédait la faculté de détruire certains micro-organismes ou de les affaiblir en les rendant inoffensifs.

Les recherches prirent une autre dimension après 1900 et principalement avec les travaux de FLEMING sur le Lysozyme, puis avec les publications de DOLD et WEIGMAN qui définirent les substances ayant un pouvoir d'inhibition ou de transmutation sur les micro-organismes, sous le nom d'inhibines ou de mutines.

Ces études princeps et celles qui suivirent furent le plus souvent réalisées sur des micro-organismes aérobies ou anaérobies facultatifs.

Nous avons personnellement et compte tenu de l'importance pathogénique des processus biochimiques qu'ils mettent en jeu, étudié l'impact salivaire, d'une part sur des micro-organismes anaérobies que nous retrouvions constamment dans les poches parodontales, d'autre part sur des micro-organismes anaérobies stricts ayant peu ou pas d'incidence dans l'étiopathogénie des parodontites, enfin sur un germe aérobie microaérophile inducteur de caries chez l'animal et chez l'homme.

Il nous a semblé nécessaire, au début de la réalisation de cette étude, dans un premier temps, et afin de bien situer les relations pathogéniques pouvant exister entre salive et parodontopathies de préciser les notions fondamentales concernant la salive et les pouvoirs anti-bactériens qui lui sont classiquement attribués. Puis, dans un second temps, nous avons précisé et défini le choix des micro-organismes testés, des salives prélevées et étudié l'action des secondes sur les premiers par une méthode qualitative et une méthode quantitative.

GENERALITES

LES GLANDES SALIVAIRES

I - EMBRYOLOGIE DES GLANDES SALIVAIRES

Les glandes salivaires majeures et mineures jugales et palatines, naissent de bourgeons épithéliaux qui s'enfoncent dans le mésenchyme pour y former des cordons qui se ramifieront et se canaliseront secondairement.

L'origine de ces glandes est assez mal connue en raison de la faiblesse d'indices topographiques bien définis qui rendent imprécise la frontière stomodéo-pharyngienne. Ainsi l'origine des sous-maxillaires et des sub-linguales, reste ambiguë alors que l'on peut affirmer l'origine épiblastique de la glande parotide.

Son ébauche apparaît au cours de la sixième semaine de vie intra-utérine et revêt l'aspect d'un bourrelet épithélial situé au fond du vestibule qui sépare la joue de la gencive supérieure. Puis ce bourrelet devient un cordon cellulaire plein après s'être isolé de l'épithélium vestibulaire et s'arborise distalement au troisième mois pour donner le corps glandulaire. Sa trace proximale constituera le canal de Sténon.

L'ébauche de la glande sous-maxillaire apparaît à la même date sous forme d'une gouttière creusant le sillon linguo-gingival. Sa prolifération postérieure, sous forme d'un cordon cellulaire plein, s'enfonce dans le mésenchyme et s'arborise distalement en donnant vers le troisième mois le corps glandulaire. Deux mois plus tard, cette gouttière se fermera, constituant ainsi le canal de WHARTON.

La glande sublinguale procède de nombreux bourgeons épithéliaux émis vers la huitième semaine par le sillon linguo-gingival. L'accroissement postérieur de ces bourgeons donnera des glandes dont l'ensemble constituera le corps glandulaire. Cette origine multiple explique l'existence des canaux excréteurs multiples qui débouchent parfois dans le canal de WHARTON et l'impossibilité de séparer la salive sub-linguale de la salive sous-maxillaire.

II - PHYSIOLOGIE DE LA SALIVATION

En permanence et en dehors de certaines affections, la salive baigne l'ensemble des tissus de la cavité buccale, protégeant dents et tissus connexes par ses propriétés physiques et chimiques, son action détersive, son pouvoir tampon et son action anti-bactérienne.

Elle joue aussi un rôle dans la phonation, la mastication, la déglutition et plus accessoirement au cours de la digestion.

L'écoulement salivaire réalisé au niveau des canaux excréteurs est sous la dépendance d'une double innervation :

- innervation parasympathique
- innervation sympathique.

Cette innervation est contrôlée centralement par des neurones connecteurs situés au niveau bulbaire, ceux-ci subissant un contrôle suprabulbaire.

1 - Innervation parasympathique

Les glandes salivaires principales et accessoires reçoivent une innervation parasympathique. La stimulation électrique de ces fibres entraîne une salivation intense.

Le système parasympathique excite la cellule sécrétoire par l'intermédiaire de l'acétylcholine comme le montrent les expériences de perfusion des glandes salivaires.

2 - Innervation sympathique

Elle est plus discutée que la précédente mais il semble loisible d'admettre un mécanisme sympathique de sécrétion.

Des auteurs comme MATHEWS le font intervenir au niveau des cellules myoépithéliales dont la contraction entraînerait un vidage des canaux excréteurs. A l'opposé, des expériences d'excitation sympathique entraînant des manifestations sécrétoires indéniables semblent en faveur d'une commande par le système sympathique. Néanmoins on ne peut conclure à l'existence de fibres sécrétoires spécifiquement adrénérgiques.

3 - Sécrétion chez l'homme

Les stimuli modificateurs de la sécrétion salivaire sont chez l'homme oraux et extra-oraux. Ainsi LASHLEY décrit un réflexe mastico-salivaire au cours de la mastication d'éléments inertes et insapides telles la paraffine. Ce réflexe est couramment utilisé pour recueillir plus abondamment la salive dans un but expérimental. Cette sécrétion semble liée à la stimulation de récepteurs périodontaux et lingaux.

Les stimulations gustatives sont le stimulus principal de la sécrétion salivaire et en règle générale le débit salivaire est proportionnel au logarithme de la concentration Molaire en acide ou en sucre. Malheureusement ces stimulations sont difficilement utilisables lors des prélèvements salivaires, car hormis les cas où ce prélèvement a lieu par canulation des canaux excréteurs les nutriments déposés dans la cavité buccale interfèrent beaucoup sur la composition salivaire.

Par contre, les stimulations olfactives conviennent parfaitement et sont efficaces comme l'ont montré les expériences de GRISOGANI en 1925, ELSBERG en 1940 et KERR en 1961. Nous même avons obtenu une stimulation intense de la salivation parotidienne par présentation d'odeurs habituelles et alimentaires comme celles du citron, du vinaigre ou de la moutarde.

Enfin, SHANNON et SUDDICK ont montré, en 1973, que l'obscurité abaissait significativement l'écoulement parotidien et que corrélativement cet abaissement du flux salivaire s'accompagnait d'une augmentation de la concentration en potassium et en chlorures (38).

4 - Etude de la sécrétion du potassium

Cette étude de la sécrétion du potassium est particulièrement intéressante. Elle montre qu'au cours des expériences de stimulation des fibres sécrétoires et grâce à la méthode des bilans qui permet de comparer les quantités de l'ion K^+ dans le système artério-veineux, sa concentration intraglandulaire et sa quantité salivaire, que des variations importantes dans les quantités de potassium excrétées existent en fonction du temps de stimulation.

Comme les échanges de potassium conditionnent les échanges d'ions chlorés, qui modifient eux-mêmes la répartition du sodium, on peut se demander si les salives recueillies au cours de longues stimulations sont le reflet véritable d'un écoulement naturel.

LA SALIVE

I - PROPRIETES PHYSIQUES

1 - Caractères physiques

La salive mixte qui provient d'un mélange des salives sous-maxillaires parotidiennes et sublinguales dans les proportions respectives de 69%, 26 % et 5 % et en stimulation 63 %, 34 %, 3 %, d'après BRABANT (2) est un liquide transparent, incolore, un peu filant et visqueux, insipide, d'odeur fade.

Sa sédimentation la sépare en trois couches :

- au fond, un dépôt blanchâtre constitué de cellules épithéliales de la muqueuse buccale et de ses sels minéraux précipités, des organismes parasites et des corpuscules très divers

- une couche moyenne transparente ou légèrement opaque,

- une couche supérieure spumeuse qui disparaît.

La salive sous maxillaire est filante et visqueuse,

La salive sub-linguale est épaisse, filante et très visqueuse,

La salive parotidienne n'est pas visqueuse et très claire.

2 - Volume

La sécrétion salivaire représente un volume compris entre un demi litre et un litre et demie par 24 heures. Ce volume est variable suivant les individus et au cours d'états pathologiques.

3 - Densité

Sa densité est voisine de celle de l'eau : 1,004 à 1,007.

4 - PH

Le pH salivaire varie entre 6,7 et 7,4 (12). Ce pH est variable d'un individu à l'autre, en fonction de l'âge, du temps et de certains états pathologiques.

Néanmoins, une grande stabilité est assurée par le pouvoir tampon de la salive qui dépend des carbonates, des phosphates, des protéines (amphotères) et des mucines.

Ce pouvoir tampon n'est d'après DECHAUME ni influencé par l'âge ni par la carie dentaire. Cependant, une récente étude met en évidence les modifications du pouvoir tampon dans la salive d'individus porteurs de caries (8).

5 - Tension superficielle

KOPACZEWSKI, en se basant sur l'étude d'un échantillon assez restreint de 7 salives humaines, donne des valeurs de tension superficielle de la salive mixte comprises entre 69,5 et 71,4 dynes, c'est à dire très proches de celles de l'eau (29).

CARTIER, dix ans plus tard, en donne une valeur nettement abaissée, de l'ordre de 55 dynes et attache à cette valeur un pouvoir mouillant de la salive très supérieure à celui de l'eau (7).

6 - Viscosité

La viscosité salivaire est due à la présence de mucines. Cette teneur en mucines étant différente suivant la provenance glandulaire de la salive, la viscosité est elle-même variable entre ces différentes salives.

En utilisant l'appareil de BAUME, KOPACZEWSKI détermine des valeurs oscillant entre 1,10 et 1,32 poise (29).

DECHAUME, plus récemment, trouve chez un sujet diabétique, des valeurs comprises entre 0,73 poise à 35° et 1,10 poise à 23° (13).

7 - Point de congélation

Il est proche de celui de l'eau, la salive se congelant à $-0,2^{\circ}\text{C}$, $-0,4^{\circ}\text{C}$. Ceci traduit une faible concentration moléculaire et une pression osmotique basse.

II - COMPOSITION CHIMIQUE

La salive contient entre 9 940 et 9 950 parties d'eau pour environ 50 à 60 parties solides.

C'est à dire que par évaporation et dessiccation de 24 heures à l'étude à 105° on obtient un extrait sec de 0,50 g à 0,60 g pour 100.

La calcination de cet extrait sec donne un résidu de cendres compris entre 0,20 % et 0,25 % qui représente la valeur de la fraction minérale de la partie non aqueuse et qui donne par soustraction celle de la fraction organique; soit 0,25 à 0,40 g pour cent.

DOCUMENTS GEIGY, 1964

Quantité par 100 ml de salive sans stimulation

Production quotidienne	1 litre
Poids spécifique	1,002-1,008
pH (adulte)	5,97
pH (enfant)	7,32
Acides aminés	
Alanine	0,22-0,91
Arginine	0,00-0,35
Aspartique (acide)	0,05-0,49
Bêta-alanine	0,04-0,08
Cystine	0,00-0,13
Glutamique (acide)	0,16-0,92
Glycine	0,35-1,56
Histidine	0,27-1,25
Isoleucine	0,14-0,84
Leucine	0,18-0,53

Lysine	0,72-1,37
Méthionine	0,00-0,07
Phénylalanine	0,26-0,49
Proline	0,00-0,74
Sérine	0,09-0,31
Taurine	0,20-0,67
Thréonine	0,07-0,38
Tryptophane	0,00-0,26
Tyrosine	0,17-0,80
Valine	0,09-0,23
Acide citrique	0,00-1,92
Acide lactique	2,5 -10
Acide urique	1,5
Ammoniaque	2-10
Azote résiduel	17-58
Bicarbonate en vol. pour 100 de CO ₂	5,5
Brome	0,02-0,71
Calcium	4,5-10
Chlorures (adulte)	102,8 - (110-165)
Chlorures (enfant)	57 (24 - 90)
Cobalt	7ug
Cuivre	25 ug
Eau p. 100	99,4

Enzymes :

Aldolase	Inhibine (Dold)
Amylase (ptyaline)	Lipase
Carbohydrase	Lysozyme (Fleming)
Catalase	Maltase
Collagénase	Mucinase
Déhydrogénase	Oxydase
Fructofuranosidase	Peroxydase
Galactosidase	Phosphatase
Glucuronidase	Phosphomono-estérase
Glycogénase	Protéïnase
Hexokinase	Réductase
Hyaluronidase	Sulfatase
Hydratase	Uréase

Fluor	10-20 ug
Histamine	15 ug
Iode	3-24 ug
Magnésium	0,5-1,0
Mucines	200 (renferme des substances spécifiques des groupes sanguins)
Phosphore total	20,4 (12-28)
phosphore organique	5,5 (0-13)
Phosphore minéral	14,9 (8-21)
Potassium	77 (46-107)
Protéines totales	262
Sodium	1-65 (variations inversées du K)
Soufre	7,6
Substance réactive (sucre).....	10-30 N = 0
Sulfocyanure	0-33
Urée (adulte)	75-90 p. 100 du taux sérique
Urée enfant	20-90 P. 100 du taux sérique
Vitamines	
B-complexe	
Biotine	0,008 ug/ml
Acide folique	0,0001 ug/ml
niacine	0,03 ug/ml
Acide pantothénique	0,08 ug/ml
Piridoxine	0,6 ug/ml
Riboflavine	0,5 ug/ml
Thiamine	0,2-1,4 ugp. 100
Vitamine B12	0,00015-0,0005 ug/ml
Vitamine C	0,0-0,4 mg p. 100
Vitamine K	0,15 ug/ml

A - LES MATIERES MINERALES

1 - Les cations

a - le calcium

Ce cation est présent dans la salive. Les valeurs qui sont données par les différents auteurs sont variables suivant les techniques de prélèvement. (salive stimulée ou non stimulée) et la technique de dosages utilisée.

Les valeurs oscillent entre 3,5 mg P. 100 et 10 mg p. 100. On trouve sous forme ionisée 65 % du calcium total, l'autre fraction étant liée aux mucines salivaires (11).

b - le potassium

Les moyennes obtenues varient entre 60 et 80 mg p. 100.

c - le magnésium

Les valeurs fournies varient entre 0,39 mg p. 100 et 0,70 mg p. 100.

d - le sodium

Entre 9,59 p. 100 et 36 mg p. 100.

e - le fer

0,050 p. 100.

2 - les anions

a - les chlorures

Ils sont bien représentés dans la salive comme dans tous les liquides de l'organisme, mais on en trouve moins que dans le plasma. Les valeurs fournies sont les suivantes :

CLARK	50 mg %
MATHIS	41,2 à 93,7 mg %
VLADESCO	66 à 197 mg %

avec un abaissement sensible lorsque la sécrétion est stimulée.

b - les phosphates

Le phosphore total salivaire comprend :

- du phosphore acido-soluble formé :
 - des orthophosphatases
 - des pyrophosphatases
 - des esters phosphoriques.
- du phosphore nucléo-protidique
- du phosphore lipidique (lié au lécithines).

La teneur du phosphore salivaire est plus élevée que celle du sérum, ses valeurs variant entre 9 mg % et 15 mg %.

c - les fluorures

MAC LURE donne la proportion de 0,1 mg p. 100 du fluorure dans la salive (32).

d - les nitrates

J. VILLE et MESTUZAT ont montré qu'ils existaient dans la salive et que le flore nitrifiante buccale les réduisait en nitrites.

e - les carbonates

L'acide carbonique existe sous deux formes. Une forme dissoute et une forme combinée en carbonate et bicarbonate.

B - LES GAZ

Les gaz de l'air atmosphérique existent dissous dans la salive. On y retrouve :

- de l'oxygène	0,84	- 1, 46 cc %
- du CO ₂	2 cc %	
- de l'azote	2,37	- 3, 77 cc %.

L'oxygène présent pourrait avoir une action sur les micro-organismes anaérobies de la cavité buccale.

C - LES COMPOSES ORGANIQUES

On peut y inclure :

1 - Les sulfocyanures

Leur taux salivaire varie de 6 mg % (ROBIN) à 27 mg % (MOGLIA)

2 - L'urée et l'acide urique

L'urée passe du sang dans la salive par simple diffusion et sa teneur varie entre 13 et 27 mg %, soit environ 75 à 90 % des valeurs sanguines.

L'acide urique existe en quantité plus faible, 1 à 2 mg % dans la salive mixte.

3 - Les protides

a - les acides aminés

Les acides aminés sont bien représentés dans la salive. KESEL, KIRCH et WOLDRING ont fourni les différentes valeurs que nous avons reproduites dans le tableau précédent (26).

Les valeurs salivaires comparées à celles du sérum sont supérieures ou inférieures suivant les acides aminés considérés et il n'apparaît pas que les variations enregistrées soient en rapport avec un processus cariogène.

b - les glycoprotéïnes - mucines salivaires

Produit de sécrétion des glandes salivaires, ces mucines sont surtout d'origine sous-maxillaire, puisque la salive parotidienne en est presque dépourvue (0,05 g %) et que la salive mixte en possède 0,2 g %.

Précipitant à froid dans les acides faibles elles possèdent un pouvoir anti-bactérien certain.

Ce terme de mucines salivaires longtemps utilisé ne garde plus actuellement qu'une signification physiologique et correspond en fait à des glycoprotéïnes de poids moléculaire élevé qui ont bien été étudiées par CARLIER et collaborateurs (6).

Un fractionnement à pH3 par addition d'acide chlorydrique normal forme un précipité que l'on peut séparer par centrifugation de la fraction soluble. Ce précipité étudié en électrophorèse de zone caractérise une fraction de sérum albumine et une fraction de nature glycoprotéïque.

Cette fraction glycoprotéïque soumise à une hydrolyse pronasique perd sa viscosité par dégradation des protéines.

Son étude en électrophorèse de zone sur agarose met en évidence deux fractions glycopeptidiques :

- 1'une présente une mobilité de Béta-globuline
- 1'autre une mobilité plus grande et de caractère plus acide.

L'étude de cette seconde fraction, après action de la sialidase et du rivanol permet de caractériser :

- un sialoglycopeptide
- un glycopeptide sulfate de caractère très acide.

Dans le surnageant au rivanol persiste un glycopeptide riche en acide sialique identique au précédent.

Il semble qu'au niveau de la salive on puisse envisager la présence de trois types de glycoprotéines :

- des glycoprotéines neutres dont la structure est apparentée à celle du groupe sanguin, soluble à pH3,
- deux types de glycoprotéines acides dont une sialomucine et une sulfomucine qui combinée aux protéines donne une mucoprotéine de haute viscosité.

4 - Les glucides

Leur concentration salivaire est plus faible que leur concentration sanguine et les taux varient en fonction de la stimulation sécrétoire, de 11 mg % à 30 mg %.

Cette teneur serait légèrement augmentée chez les diabétiques.

5 - les lipides

On retrouve du cholestérol au taux de 7 mg % et des lipides phosphorés au taux de 0,12 mg %.

6 - Vitamines-

La vitamine C a été dosée dans la salive. Son taux est de 40 mg % environ. On y caractérise aussi de nombreuses enzymes du groupe B.

Ce taux enzymatique serait diminué au cours de maladies de la bouche et des dents.

7 - Hormones

Au niveau salivaire, on retrouve des hormones oestrogènes et des gonadotrophines, de l'histamine au taux de 0,9 mg par litre.

Récemment on a caractérisé une parotine qui jouerait un rôle dans le métabolisme calcique et dont l'action s'exercerait sur les tissus mésenchymateux (23).

8 - Enzymes salivaires

On retrouve dans la salive de nombreuses enzymes :

- l'amylase qui existe sous une forme alpha. Elle hydrolyse spécifiquement l'amidon.

- les phosphatases :

- acides du type A2 pH optimum 5,5
- alcalines du type A1 pH optimum 8,9
- orthophosphatases du groupe III de KAY.

Ces phosphatases d'origine salivaire ou microbienne libèrent l'ion PO_4 -- par hydrolyse des esters phosphoriques solubles. Par ce transport du phosphore salivaire, elles facilitent la calcification des dents. Le phénomène inverse est réalisable et la synthèse d'esters phosphoriques à partir des éléments phosphatés dentaires a lieu, dans les cas de phosphatémie diminuée ou d'abaissement de la synthèse des esters phosphoriques salivaires.

- une lipase qui hydrolyse les glycérides.

- une protéinase d'origine salivaire selon FANTL.

- une catalase dont on peut entrevoir l'action sur les micro-organismes anaérobies de la cavité buccale.

- une oxydase.

A côté de ces enzymes salivaires, on retrouve d'autres substances qui ont pour point commun une activité anti-bactérienne et qui sont :

- le lysozyme de FLEMING
- les inhibines et Mutines de DOLD
- le Thiocyanate
- des Immunoglobulines

III - LES ROLES DE LA SALIVE

Les différents rôles attribués à la salive sont multiples. Nous citerons pour mémoire, en dehors du rôle de défense qu'on lui attribue :

A - Un rôle digestif qui s'opère par l'intermédiaire de l'amylase

B - Un rôle excrétoire vis à vis des produits métaboliques tels l'urée, l'acide urique et certaines hormones.

Ce rôle existe également vis à vis de substances étrangères à l'organisme. A propos de ce rôle d'émonctoire, il ne faut pas oublier que ces substances éliminées, et en particulier les antibiotiques et les substances azotées, peuvent intervenir directement ou indirectement dans le rôle antimicrobien de la salive. Ces constatations devront nous guider dans nos prélèvements salivaires.

C - Un rôle endocrinien par l'intermédiaire de la parotine

D - Un rôle antibactérien

Le rôle de défense joué par la salive peut être considéré comme certain, si l'on pense à la quantité importante de germes que contient la cavité buccale et au formidable pouvoir de reproduction propre à leur espèce.

Le pouvoir anti-bactérien de la salive résulte d'une action mécanique de ses propriétés physico-chimiques et des substances anti-bactériennes qu'elle contient.

a - rôle mécanique

La salive entraîne les micro-organismes d'autant plus aisément qu'ils sont englobés par des mucines précipitées et que son pouvoir mouillant est élevé.

b - rôle physico-chimique

Il s'appuiera sur un pH maintenu stable grâce au pouvoir tampon de la salive. Cette stabilité s'oppose au développement des germes pathogènes qui pourraient profiter d'un abaissement ou d'une élévation du pH,

La teneur en azote amoniacal résultant de la destruction des bases azotées par la flore nitrifiante participe à l'alcalinisation de la salive et élimine les germes acidophiles non liés au structure de la plaque dentaire.

Enfin, la salive possède un pouvoir bactéricide et bactériostatique grâce à ses substances anti-bactériennes : le lysozyme, les principes de DOLD,

les thiocyanates-peroxydases et les Immunoglobulines.

c - principes salivaires antibactériens

1° - LE LYSOZYME

Cette enzyme découverte par FLEMING en 1922, thermostable, filtrable et résistant à la dessiccation est une enzyme de PM assez bas (14 388) appartenant au groupe des globulines et dont la molécule est riche en amino-acides basiques (JOLLES 1959).

Il a la propriété de dissoudre la paroi cellulaire de certaines bactéries sensibles à son action. La plus connue de ces bactéries est Micrococcus lysodeikticus.

Très répandu chez les êtres vivants, on le retrouve chez l'homme dans les larmes, le mucus nasal, la salive, le sérum sanguin, le liquide synovial...

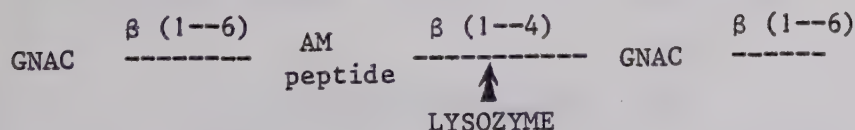
Son rôle antimicrobien le plus évident a lieu au niveau de la cornée qu'il protège de l'envahissement bactérien comme l'on montré MELNIK et NATANSON (33).

Bien que son action au niveau de la salive soit moins importante que dans les larmes, DUBOIS-PREVOST a mis en évidence son action anticariogène chez le rat après adjonction de Lysozyme au régime alimentaire de ces animaux (17).

Mode d'action :

A une concentration variant entre 10 et 1 000 µg/ml, le Lysozyme dissout complètement la paroi des bactéries sensibles avec relargage dans le milieu de constituants solubles d'origine membranaire.

Il s'agit spécifiquement au niveau des liaisons β - (1-4) glycosidique entre l'acide muramique et la N-acétyl-glucosamine de la paroi bactérienne.



C'est pourquoi il n'agit pratiquement que sur les bactéries Gram + où ces liaisons sont retrouvées, les bactéries Gram - étant résistantes à son action.

La rupture des liaisons glycosidiques entraîne un fractionnement de la paroi des germes sensibles et leur lyse dans des milieux de faible concentration saline, ou leur transformation en protoplastes si ces bactéries sont suspendues dans un milieu dont la pression osmotique est élevée. (ce fait est important pour nous, car si l'action du Lysozyme aboutit à la formation de particules protoplastiques, l'abaissement de la densité optique du milieu de culture n'est environ que de 20 % de celle obtenue lorsqu'il y a lyse).

On peut donc supposer que son action au niveau de la cavité buccale sur les micro-organismes responsables de l'apparition des caries et des parodontopathies est assez restreinte et que le Lysozyme n'est peut être pas le principe anti-bactérien majeur de la salive.

Citons à cet effet une étude réalisée en 1966 par GIBBONS, STOPPELAAR et HARDEN (19) qui ont montré l'inefficacité du Lysozyme à des concentrations variant de 5 à 500 µg par ml sur 112 souches microbiennes représentant 13 groupes de bactéries orales parmi lesquelles on retrouve :

- <u>Bactéroides oralis</u>	15
- <u>Bactéroides mélaninogénicus</u>	2
- <u>Diphtéroïdes anaérobies</u>	9
- <u>Diphtéroïdes facultatifs</u>	17
- <u>Fusobactérium</u>	9
- <u>Lactobacillus</u>	7
- <u>Peptostreptococcus</u>	3
- <u>Staphylococcus</u>	10
- <u>Streptococcus mitis</u>	14
- <u>Streptococcus salivarius</u>	4
- <u>Treponema microdentium</u>	12
- <u>Veillonella alcalescens</u>	5
- <u>Vibrio sputorum</u>	5

Parmi ces souches, 30 ont été testées en adjoignant 400 µg/ml d'E.D.T.A. sans qu'aucune action lytique ne soit enregistrée.

2° - INHIBINES ET MUTINES DE DOLD

C'est en 1932 et 1933 que DOLD et WEIGMANN ont formulé la présence de facteurs anti-bactériens dans les sécrétions externes humaines (16).

Ils étudièrent aussi le rôle de la salive comme facteur anti-bactérien

et à partir de 7 individus sains, mirent en évidence le pouvoir bactéricide et mutagène de la salive sur le bacille diphtérique.

Les auteurs remarquèrent l'inconstance des résultats suivant le donneur utilisé.

Chez l'homme, on le retrouve dans ;

- la salive,
- le mucus nasal,
- la bile, l'urine, etc...

Propriétés

Inhibantes et non lysantes, elles ont un spectre anti-bactérien très étendu englobant des micro-organismes pathogènes et saprophytes.

Elles sont inactivées par chauffe à 56° C pendant 6 minutes et pendant 1 minute à 100 ° C.

Leur dilution abaisse considérablement leur pouvoir anti-bactérien (important en opacimétrie).

Le froid n'a pas d'effet appréciable si le dégel est progressif (16).

Vis à vis de la filtration, leur statut n'est pas clair, certains auteurs les définissent comme non filtrables, d'autres les retrouvent après filtration (28).

En fait il semble que seules les premières filtrations soient actives. (ceci devrait nous inciter à ne pas utiliser de pré-filtrations pourtant quasiment indispensables lors de la stérilisation biologique de la salive).

Les Inhibines sont non diffusables dans la gélose et de ce fait leur action n'apparaîtra pas en utilisant une méthode proche des antibiogrammes sur phase gélosée.

Enfin, elles résistent mal à la dessiccation et à la lumière, elles sont difficiles à conserver et perdent leur effet anti-bactérien au bout de 8 à 10 jours à 20° C.

Nous voyons donc, en considérant ces propriétés, que le statut de ces entités bactéricides est peu défini.

En effet, si l'on veut affirmer la provenance salivaire de ces produits, on est obligé, dans un premier temps, de traiter les échantillons à telle fin qu'ils soient stériles. Ceci ne peut être fait que par filtration et l'imprécision du comportement de ces substances au niveau des filtres hypothèque les résultats obtenus si ceux-ci sont négatifs.

Dans un second temps, une fois les échantillons de salive stérilisés pour tester un pouvoir anti-bactérien éventuel, nous avons à notre disposition deux types de procédés :

- un procédé utilisant un phénomène de diffusion dans la gélose, type antibiogramme, et nous nous heurtons à la non-diffusibilité des Inhibines et des Mutines dans les milieux gélosés,
 - un procédé s'appuyant sur des techniques opacimétriques.
- Nous nous heurterons à des problèmes de dilution, le mauvais comportement de ces substances lors de cette dilution nous imposera alors de concentrer la salive avant reconstitution.

3° - THIOCYANATE ET PEROXYDASE

En 1948 Et 1949, DAWSON et BLAGG mettent en évidence une action anti-bactérienne de la salive d'individu sain sur le vibron cholérique. Cette action est diminuée chez les individus malades (10-11).

Sans le caractériser précisément les auteurs indiquent que les principes anti-bactériens mis en jeu ne semblent pas de nature protéique.

Maintenus à 6° C stérilement, ils gardent très longtemps leur action sur Ch. Vibrio. Cette action diminue progressivement après chauffage à 75° C pour être complètement supprimée à 100° C.

En 1958, KERR et WEDDERBURN (25) mettent en évidence le pouvoir anti-bactérien des salives humaines, parotidiennes et sous-maxillaire sur M. lysodeikticus, L. caséi, L. plantarum, L. acidophilus, L. pyogenes var. aureus et var. albus, St. salivarius.

Les auteurs attribuent ce pouvoir anti-bactérien à un ensemble de

deux facteurs :

- le premier possède les caractéristiques du Lysozyme
- le second non caractérisé est défini comme un facteur thermolabile actif sur 6 micro-organismes Lysozyme-résistant.

En 1959, ZELDOW reprend les travaux de ces auteurs (24). Il précise l'existence d'un facteur anti-Lactobacillus acidophilus et montre :

- que son action peut être augmentée par lyophilisation et concentration lors de la reconstitution
- que seul, le surnageant salivaire possède des propriétés antibactériennes,
- qu'après dialyse de la salive, lyophilisation et reconstitution du dialysat, ni la salive dialysée, ni le dialysat ne possède de pouvoir anti-bactérien, mais que celui-ci apparaît lorsqu'on rajoute du dialysat concentré à la salive dialysée.
- ils montrent également que les fractions dialysables et non dialysables sont inactivées par chauffage à 75° C pendant 5 mn à PH 3 et de PH 7 à 11. Par contre, le traitement thermique est sans effet à pH 5,5. La fraction non dialysable conserve sa capacité de reconstituer le pouvoir anti-bactérien de la fraction dialysable traitée par la chaleur et ceci indépendamment de la concentration en ions hydrogène
- enfin, qu'une conservation de 48 heures à 37° C n'altère pas les propriétés du système.
- s'attachant à étudier les effets de la filtration des deux fractions sur filtres Millipore, il montre que le pouvoir anti-bactérien des salives filtrées par rapport à celui des salives non filtrées est équivalent ou diminué de moitié.
- il conclue enfin que ce facteur anti-bactérien n'est pas identique au Lysozyme ni à l'amylase salivaire.

A la même époque, GREEN décrit les propriétés d'un facteur qu'il considère être identique à celui décrit par KERR en 1958 (20).

Ce facteur est filtrable, non dialysable, insoluble dans l'alcool ou l'acétone, précipité par le sulfate d'ammonium. Il est inactivé à 56° C pendant 30 mn et résiste à la congélation et à la décongélation successive.

C'est en 1962 que DOGON et COLL. formulent la présence de l'ion Thiocyanate dans les systèmes anti-bactériens salivaires (14) et précise la

la nature du facteur anti-bactérien non identifié par KERR en 1958.

Ce facteur persiste après filtration sur Millipore de $0,45 \mu$, la lyophilisation ne l'affecte pas et les sécrétions gardent leur activité anti-bactérienne pendant une période au moins égale à 400 jours à une température de 4°C .

Par contre, le gel et le dégel répétés réduisent progressivement l'activité anti-bactérienne de la salive testée. Celle-ci est complètement détruite par chauffage à 75°C .

La dilution des échantillons importe également puisque l'activité anti-bactérienne diminue progressivement avec des dilutions de l'ordre de 50 % pour disparaître aux alentours de 12 %.

Le traitement de la salive par l'éther permet de retrouver le principe actif dans la fraction aqueuse.

L'action de la trypsine entraîne une diminution corrélative de l'activité anti-bactérienne proportionnellement à la concentration en trypsine.

Les essais de dialyse montrent que l'activité anti-bactérienne disparaît après passage sur 3 membranes sélectives des poids moléculaires 50 000, 40 000 et 1 500. Cette activité est récupérée par recombinaison des fractions dialysable et non dialysable.

Le poids moléculaire de la fraction dialysable est inférieur à 1 500. La stabilité thermique est bonne jusqu' à 200°C . Au delà, l'activité anti-bactérienne disparaît.

L'action inhibitrice de cette fraction diminue également avec les dilutions supérieures au 1/10.

Enfin, les essais de passage de la fraction dialysable sur des colonnes échangeuses de cations sont sans effet alors que l'activité anti-bactérienne disparaît lorsque ce passage a lieu sur une colonne échangeuse d'anions. Cette activité est recouvrée par adjonction de l'ion sulfocyanate qui supporte sans dommage un traitement thermique à 200°C .

Les auteurs concluent que deux facteurs sont impliqués dans le mécanisme anti-bactérien de la salive. L'un est de nature protéique, l'autre est un anion et probablement l'ion Thiocyanate.

Le mécanisme d'action envisagé est soit une action enzyme-coenzyme anionique, soit une action enzymatique sur un anion inactif, libérant un facteur anti-bactérien.

En 1970, ces mêmes auteurs précisent le mécanisme d'action impliqué (15).

La fraction protéinique présente les caractères d'une enzyme et le Thiocyanate se comporte plutôt comme un substrat que comme un co-facteur.

L'utilisation de marqueurs radioactifs et l'extraction fractionnée des Lactobacillus caséi testés permet de localiser un matériel accepteur cellulaire cytoplasmique et non membranaire.

En 1966, CLEM et KLEBANOFF décrivent un système salivaire anti-bactérien inhibant la croissance de Lactobacillus acidophilus et faisant intervenir une peroxydase (lactopéroxydase) et l'ion Sulfocyanate (9).

Le système requiert la présence d'H₂O₂ et agit au niveau de l'assimilation de l'acide glutamique et d'autres acides aminés.

La dialyse entraîne une diminution de l'activité du système et l'adjonction d'ion SNC⁻⁻⁻ lui redonne toute son activité.

Un traitement thermique à 100° C pendant 10 mn entraîne la disparition du pouvoir anti-bactérien, lequel est restauré par un apport d'une lactoperoxydase

En 1970, DOGON et AMDUR (15) ne parlent plus d'un système anti-bactérien mais de deux systèmes distincts faisant tous deux intervenir l'ion Sulfocyanate :

-- le premier associe l'ion SNC⁻⁻⁻ - H₂O₂ et une peroxydase. Il agit en aérobiose et est inhibé par la présence de catalase.

-- le second associe à l'ion SNC⁻⁻⁻ une protéine salivaire non identifiée. Ce système fonctionne aussi bien en aérobiose qu'en anaérobiose et n'est pas inhibée par la présence de catalase.

4° - IMMUNOGLOBULINES SALIVAIRES

a -généralités

Les immunoglobulines ou anticorps, sont des globulines sériques dont la synthèse est induite par la pénétration dans l'organisme d'une substance antigénique avec laquelle les immunoglobulines réagissent spécifiquement.

Dans le sérum humain on trouve cinq types d'immunoglobulines :

A - G - M - D - E.

Dans la salive humaine, TOMASI et ZIGELBAUM (42) furent les premiers à montrer la prépondérance des IgA.

Avant eux, SUGG et NEILL en 1931, révélaient l'existence dans la salive de substances anti-diphtériques (41).

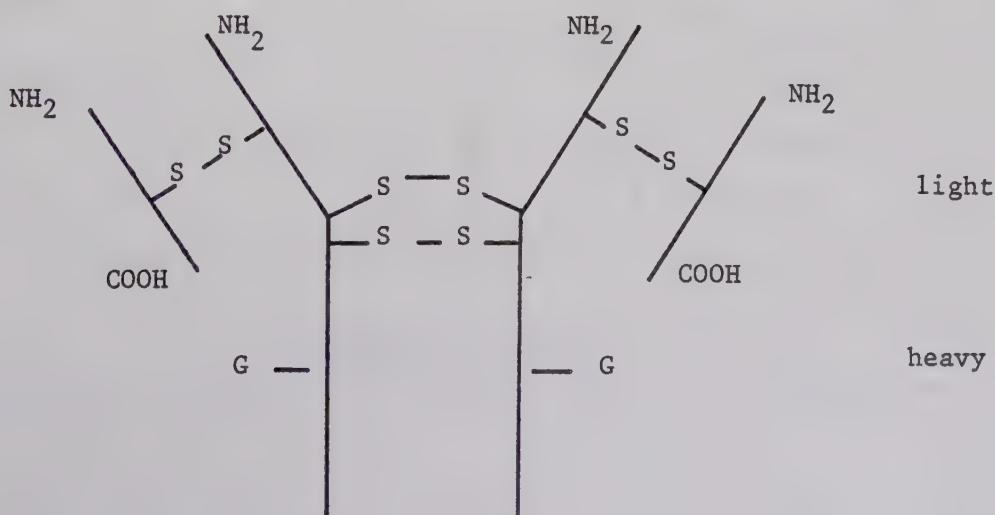
En 1942, HAMMOND et WEINMANN mettaient en évidence la présence d'opsonine anti-Lactobacillus acidophilus (22)

Plus tard, en 1958, KRAUS suggère l'hypothèse d'une présence constante de substances immunes dans la salive (31).

Les IgA de sécrétion sont quantitativement plus élevés dans la salive que dans le sérum et l'étude de leur constante de sédimentation montre une différence de structure avec les IgA sériques.

b -structure des IgA salivaires - IgA sécrétoires

Les IgA sécrétoires répondent à la formule générale $(\alpha)_2 J_1 SC_1$ et sont composées de deux IgA monomères, d'une pièce sécrétoire SC (ou SP) et d'une pièce de jonction J.



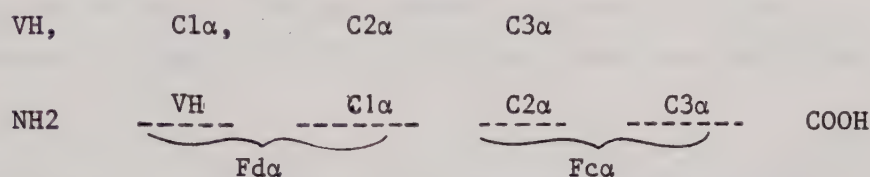
Comme toute immunoglobuline, les IgA sont constituées de chaînes légères, reliées par des ponts disulfures aux chaînes lourdes.

-1 Les chaînes lourdes - Chaines α

Responsables des caractères antigéniques des Immunoglobulines, elles ont un poids moléculaire compris entre 55 000 et 75 000.

Elles possèdent deux fonctions terminales, une fonction acide d'un côté et une fonction amine de l'autre qui constitue le site de fixation de l'antigène.

Elles sont sous divisées en quatre sous-unités :



Ces chaînes lourdes sont porteuses de glucides et suivant qu'elles contiennent un résidu glucosamine et galactosamine ou qu'elles sont dépourvues de galactosamine, on peut distinguer des sous-classes $\alpha 1$ ou $\alpha 2$ qui donneront deux classes d'IgA : A1 ou A2.

IgA	
IgA1	IgA2
Chaîne lourde $\alpha 1$	Chaîne lourde $\alpha 2$
Glucosamine	Glucosamine
Galactosamine	
16 à 17 cystine	14 à 16 Cystine

-2 Les chaînes légères

Ce sont des chaînes protéiques dont le poids moléculaire est de

22 500 à 25 000, unies par des ponts disulfures.

Les chaînes légères des deux molécules monomériques des IgA sont monotypes Kappa ou Lambda et jamais moitié Kappa, moitié Lambda.

Ces chaînes légères, synthétisées en 30 à 40 secondes, sur des polyribosomes, s'unissent aux chaînes lourdes (qui sont synthétisées en 60 à 90 secondes sur des polyribosomes différents) par des ponts disulfures et ceci avant que la synthèse des chaînes alpha ne soient achevées.

-3 La pièce sécrétoire (SC-SP)

Mise en évidence dans la salive par BRANDTZAEG en 1968 (3), l'hypothèse de son existence avait été émise en 1965 par TOMASI, qui remarquait que la constante de sédimentation des IgA S (11 S) était plus élevée que celle des IgA sériques (7S).

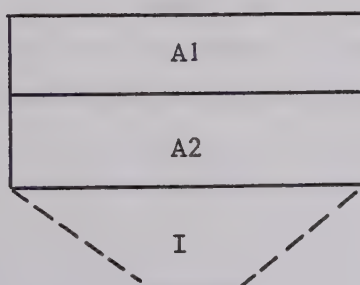
Elle est de nature glycoprotéique et d'un poids moléculaire mal défini (de 35 000 à 75 000 suivant la méthode de mesure utilisée).

Son mode de liaison avec l'IgA est également peu précisé à l'heure actuelle.

Une alkylation suivie d'un gel de filtration d'une solution non dénaturante qui libère une grande partie des SC des molécules IgA S, permet à BRANDTZAEG de conclure à l'existence de liaisons covalentes disulfure entre SP et les IgA S (4) alors que la simple dénaturation par la guanidine aboutissant au même résultat permet à TOMASI d'affirmer que ces liaisons sont non covalentes (43).

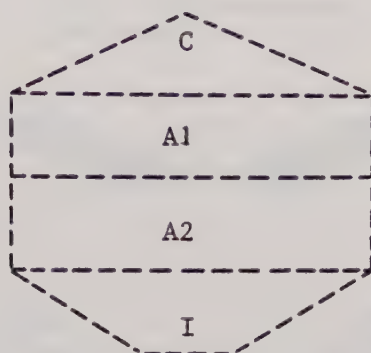
Site antigénique de SC - Modèle architectural

La pièce sécrétoire non liée aux IgA.S possède deux sites antigéniques A et I, le site A pouvant être divisé en deux déterminants antigéniques A1 et A2 (BRANDTZAEG). Ces derniers sont accessibles dans la molécule liée d'IgA.S.



La liaison entre SC et l'IgA.S fait apparaître un troisième déterminant antigénique C sans doute créé par l'apparition d'une nouvelle configuration spatiale de la pièce sécrétoire lors de cette liaison.

Par contre, le site antigénique I dans la molécule d'IgA-SC reste inaccessible après dénaturation de la molécule par le β -mercaptoéthanol.



L'action de l'acide urique rend ce site antigénique I accessible, tout en respectant les ponts disulfures qui unissent la pièce sécrétoire à l'IgA (4).

L'action de ces différents dénaturants permet de penser qu'il existe dans la molécule d'IgA-SC deux types de liaisons : des liaisons covalentes (ponts disulfures) et des liaisons non covalentes dues à la molécule d'IgA.

L'étude de la chaîne de jonction nous permettra de donner un modèle plus complet de la structure spatiale de l'IgA-SC.

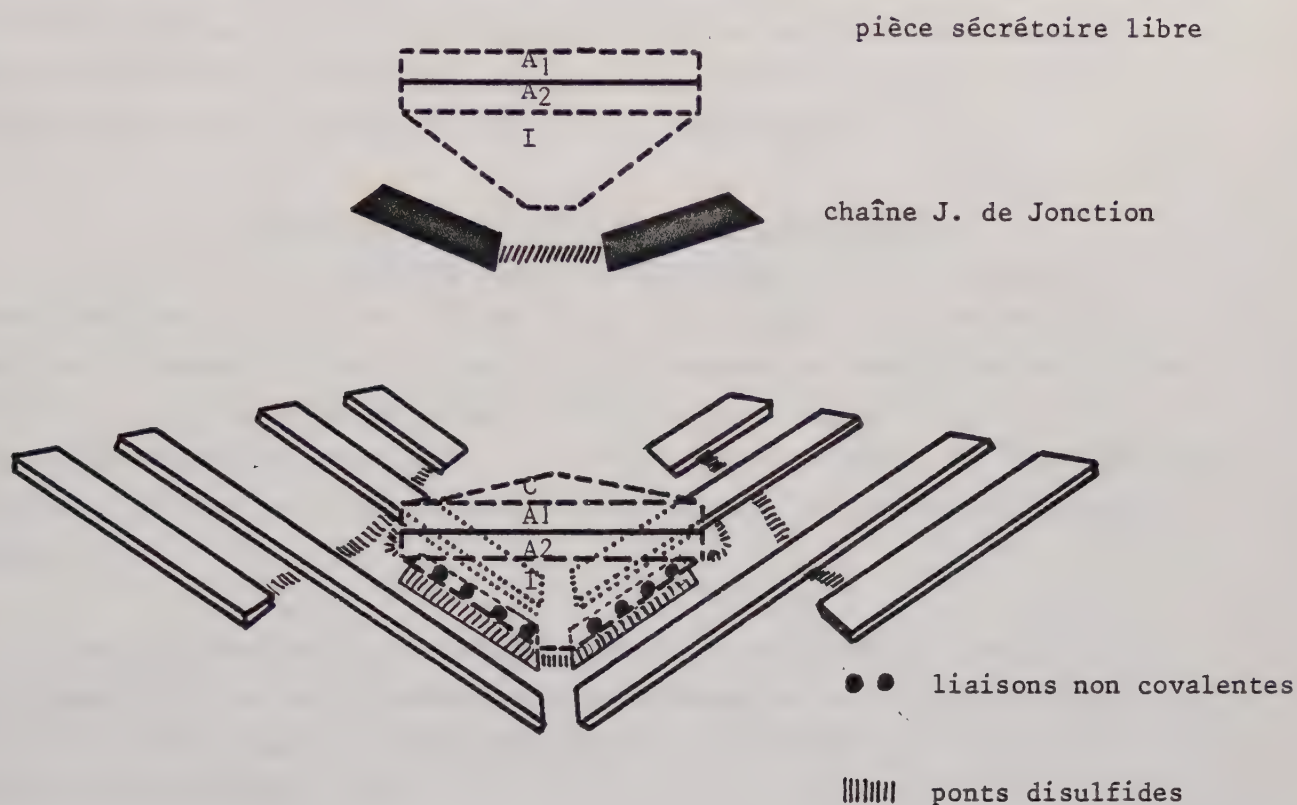
-4 La pièce J -pièce de jonction

Il s'agit d'une chaîne polypeptique d'un poids moléculaire de 23 000 que l'on peut mettre en évidence par l'électrophorèse de l'IgA sécrétoire réduite et alkylée (21).

Ce composé peut être différencié en deux sous-unités d'un poids moléculaire de 13 300 à 17 000 pour le premier et de 6 400 à 11 500 pour le second (45). Ce composé serait présent dans tous les types d'immunoglobulines polymères, IgA sécrétoire et IgM et serait lié à l'IgA au niveau de la fraction FC de la chaîne lourde.

-5 Modèle structural de l'IgA de sécrétion

Les différents travaux cités plus haut ont dernièrement permis à BRANTZÆG de fournir le modèle structural suivant (5) :



la pièce sécrétoire n'a qu'une très faible affinité pour la chaîne J isolée, en raison d'un manque de similitude de configuration spatiale.

Lorsque la chaîne J est couplée à l'immunoglobuline, cette configuration est modifiée et il s'établit des liaisons non covalentes entre la chaîne J et la pièce sécrétoire. Celle-ci sera ultérieurement réunie à l'immunoglobuline par des liaisons disulfides.

Un déterminant antigénique (site C) apparaît alors en bordure de la pièce sécrétoire en plus des déterminants A1, A2 et I, qui sont communs à la pièce sécrétoire libre et liée. Le déterminant I devient inaccessible dans la molécule liée et résulte d'une liaison finale disulfide avec la molécule d'IgA sécrétoire.

c-Cinématique de la sécrétion des IgA salivaires

Les comparaisons quantitatives des différentes études réalisées restent difficiles en raison des variations importantes résultant du mode de prélèvement.

D'autre part, le taux d'immunoglobulines décroît lorsque la salivation est stimulée. Néanmoins, on peut dire que le taux de sécrétion des immunoglobulines salivaires est extrêmement variable d'un individu à l'autre avec des valeurs variant entre 16,4 $\mu\text{g}/\text{mn}/\text{glande}$ à 59,5 $\mu\text{g}/\text{mn}/\text{glande}$.

d-IgA salivaires, caries et parodontopathies

Une corrélation négative significative existe entre la sécrétion d'immunoglobulines et l'indice carieux D.M.F. Elle suggère qu'il existe un rapport entre susceptibilité à la carie et abaissement du taux d'immunoglobulines salivaires (34). Mais rien ne permet d'affirmer que l'IgA salivaire a une action anticariogène. D'autre part, il faut noter que les réactions immunologiques salivaires n'ont que peu d'action sur le développement des plaques bactériennes buccales.

Une corrélation positive existe entre le taux d'IgA salivaire et le développement de la maladie parodontale. Cette augmentation est directement en rapport avec l'importance des dépôts microbiens antigéniques et n'a pas de signification préventive (34).

ETUDE PERSONNELLE

RECHERCHE D'UN POUVOIR ANTI-BACTERIEN SALIVAIRE

METHODES ET TECHNIQUES

I - CHOIX DES SUJETS D'EXPERIENCES

Que le but de l'expérimentation soit la mise en évidence d'un pouvoir anti-bactérien ou l'étude du comportement de micro-organismes en présence de salive prélevée sur des individus présentant un indice pathologique différent, tous les prélèvements ont été réalisés sur des adultes sans distinction de sexe.

Les tranches d'âge s'étendant de 26 - 65 ans, ces adultes ne présentaient pas de maladies graves de système ou infectieuses qui auraient pu les astreindre à une thérapeutique quotidienne, pouvant, étant donné le rôle d'émonctoire de la salive, interférer sur les résultats.

Les enfants furent éliminer de l'expérimentation en raison de la lenteur des prélèvements salivaires peu compatible avec l'impatience caractéristique de leur jeune âge et en raison du manque de définition de leur statut parodontal.

Pour l'expérimentation ayant pour but la mise en évidence d'un pouvoir anti-bactérien, il nous a paru à priori logique de retenir les individus immuns-caries et immuns-parodontopathies dont l'index CAO et l'index parodontal étaient égal à zéro.

Pour le second volet de l'expérimentation, cinq sujets parmi les huit expérimentés présentant un index parodontal de RUSSEL adapté compris entre 0 et 5, furent retenus.

II - SOUCHES BACTERIENNES UTILISEES

Nous avons retenu cinq germes anaérobies stricts et un germe aérobie-microaérophile poussant aisément en l'absence d'oxygène libre soit :

1 - Veillonella alcalescens var. syzygios

Espèce anaérobie, immobile, asporulée, à petites cellules sphériques, Gram négatif.

Morphologie : Cocci de 0,2 à 0,4 μ de diamètre groupés habituellement en amas considérables.

Physiologie : anaérobie micro-aérophile, température optimé 37° C mais poussant à 26-28°C.

Pouvoir pathogène : généralement non pathogènes lorsque les veillonelles sont isolées dans la bouche normal, elles sont parfois légèrement pathogènes pour le lapin, lorsqu'elles le sont au cours de processus morbides. C'est en général un microbe pyogène, non hémolytique, qui semble capable de s'organiser en plaques parodontales.

Habitat : cavités naturelles de l'homme et des animaux. On les retrouve dans les canaux infectés des dents et dans les poches parodontales. Le pourcentage dans les poches parodontales par rapport aux autres organismes trouvés est de 7 % pour PERRET (35), de 9 % pour SOCRANSKY (39) et de 52 % pour KAZVO (24).

2 - Actinobactérium israëli

Morphologie : batonnet, long de 4 à 6 μ sur 0,8 à 1 μ de large, isolé ou en courtes chainettes et présentant des renflements en massue le plus souvent terminaux et des ramifications vraies renflées. Immobile Gram positif.

Physiologie : anaérobie très strict, micro-aérophile par transferts successifs
Température optima 37° C.

Habitat : cavités naturelles de l'homme et des animaux, surtout la cavité buccale. Dans les poches parodontales on le retrouve dans la proportion de 4,4 % avec Corynébactérium d'après DWYER et SOCRANSKY (18).

Pouvoir pathogène : responsable de l'actinobactériose humaine et animale cervico-faciale.

3 - Corynebactérium anaerobium

Morphologie : batonnet long de 1,5 à 3 μ , sur 0,4 de large. immobile, non sporulé. Gram positif.

Physiologie : anaérobie strict, catalase négatif en primo culture, température optima 37° C.

Habitat : cavités naturelles de l'homme, caries et poches parodontales à l'état saprophyte.

Pouvoir pathogène : infections locales, septicémies, métastases.

4 - Streptococcus mutans - OMZ 175

Morphologie : cocci gram positif en chaînettes plus ou moins longues, 0,8 μ de diamètre.

Physiologie : aérobie, anaérobie facultatif. Température optima 36 à 38° C et dépourvu de catalase.

Pouvoir pathogène : considéré actuellement comme un micro-organisme remarquable dans l'étiopathogénie des caries dentaires, notamment en raison de sa capacité à produire des dextranes et par son haut pouvoir glucido-lytique.

5 - Bifidobacterium bifidum

Morphologie : bâtonnet de 2 à 5 μ sur 0,5 à 0,7 μ à extrémités bifides et présentant des renflements en massues. Immobile, Gram positif.

Physiologie : anaérobie strict durable. Température optima 37° C. Thermo-résistance nulle.

Habitat : hôte habituel de l'intestin du nourrisson, on le retrouve dans la cavité buccale (6 sur 22 d'après PREVOT.)

Pouvoir pathogène : non pathogène mais doué d'un pouvoir acidogène intense, il a été incriminé comme agent de la carie dentaire. Il peut également provoquer des irritations muqueuses importantes.

6 - Plectidium ovalaris

Morphologie : bâtonnet à spore terminale, Gram positif, de 3 à 4 μ de long sur 0,6 à 0,8 μ de large. Isolé, en paires ou en chaînettes de 4 à 8 éléments. Mobile.

Physiologie : anaérobie strict, température optima 27 à 37 °C. Thermo-résistance 2 mn à 100 ° C.

Habitat : germe tellurique, rencontré dans les fèces de cheval, de vache, mouton, chien, chat, etc... parfois chez l'homme d'après ROSTOCK (1950). Sa présence dans la cavité buccale a été mise en évidence par HALL en 1925 sur une enfant de 10 ans bien portante. Sa présence ne fut que passagère.

Pouvoir pathogène : nul.

III - MILIEUX UTILISES

1 - Gélose VF (milieu viande, foie)

Milieu utilisé pour la méthode de diffusion sur gélose, c'est un milieu de croissance pour les bactéries anaérobies.

Formule :

Digestion viande-foie	1 000 ml
Gélose	8 g
Glucose	2 g
Ph 7,4.	

2 - Milieu coeur-cervelle (BRAIN HEART INFUSION)

Milieu liquide préparé selon les recommandations du "National Formulary".

Formule :

Eau distillée	1 000
Infusion de cervelle de veau	200
Infusion de coeur de boeuf	250
Peptone (Gelysat)	10
Chlorure de sodium	5
Phosphate disodique	2,5
Glucose	2

pH 7,4

IV - PRELEVEMENTS SALIVAIRES

La salive mixte qui a été le plus utilisée et qui inclut la sécrétion de glandes salivaires annexes a été recueillie par écoulement spontané dans un flacon stérilisé, par l'intermédiaire d'un entonnoir de verre. Nous nous sommes attachés à ne pas stimuler la sécrétion afin d'éviter de modifier la composition ionique naturelle de la salive et sa teneur en immunoglobulines de sécrétion.

Pour les quelques cas où nous avons utilisé une salive parotidienne, celle-ci a été recueillie à l'aide du sialo-prélèveuse de SOHIER et NARBONNE d'un rendement extrêmement médiocre (40 - 41).

V - TRAITEMENT DE LA SALIVE1 - Filtration

La salive recueillie a été centrifugée à 3 000 t/mn pendant une demie heure. Le culot éliminé et le surnageant immédiatement filtré à l'aide de l'ensemble SWINNEX 25 de Millipore monté sur une seringue traditionnelle à embout Luer ou sur une seringue à piston fileté.

Les filtres utilisés sont des filtres écrans d'acétate de cellulose stérilisés à 120° pendant 15 mn à une pression de 1,2 bar. Le diamètre des mailles en est de 0,45µ.

La salive faisant partie des liquides de catégorie II suivant la classification de Millipore et contenant des protéines, le filtre est précédé dans l'unité de filtration d'un préfiltre en micro-fibres de verre.

Il est ainsi possible de filtrer 3cc de salive avec un ensemble filtrant stérile avant le colmatage des pores du filtre.

Après filtration, les contrôles témoins effectués tant en aérobiose qu'en anaérobiose ont toujours été négatifs.

Il est à noter que cette filtration indispensable entraîne une diminution de la teneur des facteurs bactéricides de la salive (46).

2 - Lyophilisation

La lyophilisation de la salive après filtration est imposée pour une bonne conservation et surtout afin de pouvoir concentrer cette salive lors de sa reconstitution (48).

La salive stérilisée fut donc immédiatement lyophilisée par fraction de 1 cc dans des ampoules spéciales permettant aisément la formation d'une coquille mince.

3 - Reconstitution

Avant son utilisation expérimentale, la salive a été reconstituée avec de l'eau distillée stérile et dégazée. La concentration par 4 ou 2 est obtenue en reconstituant la salive avec 0,25 cc ou 0,50 cc d'eau distillée.

4 - Traitement thermique de la salive

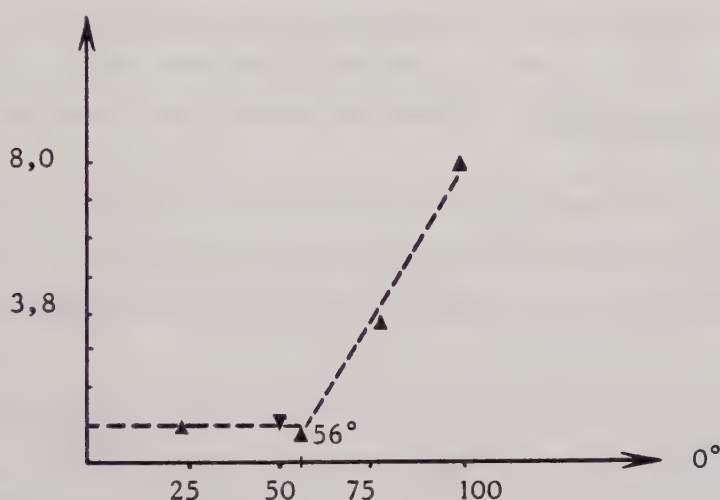
La mise en évidence d'un pouvoir anti-bactérien éventuel de la salive peut se faire suivant deux méthodes :

- par diffusion de la salive et de ses principes anti-bactériens sur une plaque de gélose ayant été préalablementensemencée à l'aide d'une solution des germes à tester.

- par opacimétrie, en mesurant la densité optique d'un milieuensemencé auquel on a ajouté la salive à tester.

Cette méthode étant comparative, il est nécessaire d'utiliser un étalon de référence constitué par un mélange milieuensemencé plus salive dépossédée de son ou ses éléments anti-bactériens.

Le traitement salivaire retenu a été un traitement thermique à 56° C pendant 20 mn, les échantillons étant disposés dans un bain-marie à agitation. Il nous est apparu qu'une température plus élevée, utilisée par de nombreux auteurs (75° et 100°) devait être éliminée car le traitement thermique élevé entraîne un changement non réversible de la densité optique de la salive, sans doute par floculation de ses constituants protéïques.



Densité optique de la salive stérile en fonction de la température

VI - RECHERCHE DU POUVOIR ANTI-BACTERIEN

1 - Antibiogramme salivaire

a - techniques

Nous avons utilisé la méthode décrite en 1958 par KERR et WANDERBURG (25).

De la gélose VF ensemencé est coulée en une couche d'environ 5 mm d'épaisseur dans une boîte de Pétri.

Des puits d'un diamètre constant de 8 mm sont réalisés à l'aide d'une canne de verre stérile et chargés de 40 mm³ de salive non traitée thermiquement et concentrée par 4, par 2 ou non concentrée.

Les boîtes de Pétri sont ensuite placées dans une JERBO-JARRE dans laquelle l'anaérobiose est réalisée à l'aide d'enveloppes génératrices de dioxyde de carbone et d'hydrogène (Gas-pack Anaerobic systems).

Les germes anaérobies testés étant fragiles et de croissance lente, il est déconseillé de stocker à 4° C les boîtes de Pétri afin de permettre une diffusion de la salive avant la pousse des germes.

La lecture des diamètres d'inhibition est réalisée au bout de 48 heures.

b - résultats

Très inconstants ces résultats sont peu significatifs. Les quelques zones d'inhibition que nous avons obtenues l'ont toujours été pour des concentrations élevées et pour deux genres seulement : Corynebacterium et Actinomyces.

L'utilisation de salive parotidienne n'améliore pas les résultats. D'autre part, ces tests ne sont pas répétitifs, fait que notait déjà KERR en 1958 et qu'il attribuait à une migration difficile et dénaturante des éléments anti-bactériens dans la gélose.

	SALIVE I			SALIVE II		
	Concentration salivaire			concentration salivaire		
germes	(4)	(2)	(1)	(4)	(2)	(1)
Strept.	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
Veill.	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
Coryn.	+ - -	- - -	- - -	- + +	- - -	- - -
Bifido.	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
Plect.	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
Actin.	- + -	- - -	- - -	+ + -	- - -	- - -

2 - Méthode opacimétrique

a - rappels sur la croissance bactérienne et l'opacimétrie

Définition

Le phénomène de croissance bactérienne résulte de l'accroissement de deux paramètres : la densité microbienne ou masse cellulaire et la concentration cellulaire ou nombre de cellules.

Ces deux paramètres sont fondamentalement opposés puisqu'à l'échelle de la cellule le premier est un phénomène continu qui aboutit à une augmentation de la masse cellulaire, alors que le second résulte d'un processus discontinu de division.

Néanmoins dans les cultures usuelles où le nombre de cellules est très élevé, les cycles individuels se recouvrent dans le temps et statistiquement la concentration cellulaire et la densité microbienne augmentent l'une et l'autre de façon continue et sont équivalentes.

Densité optique microbienne

La densité microbienne peut être exprimée en poids sec de cellules par unité de volume, le ml., mais cette technique est compliquée. C'est pourquoi nous lui avons préféré une méthode d'estimation indirecte par opacimétrie.

Cette méthode consiste à mesurer à l'aide d'un spectrophotomètre la D.O. d'une suspension bactérienne en phase liquide, sachant qu'elle suit la loi de BEER-LAMBERT et obéit à la formule :

$$DO = KLC = 10 \log_{10} \frac{I_0}{I}$$

ou I_0 est l'intensité du flux lumineux incident

I celle du flux lumineux transmis

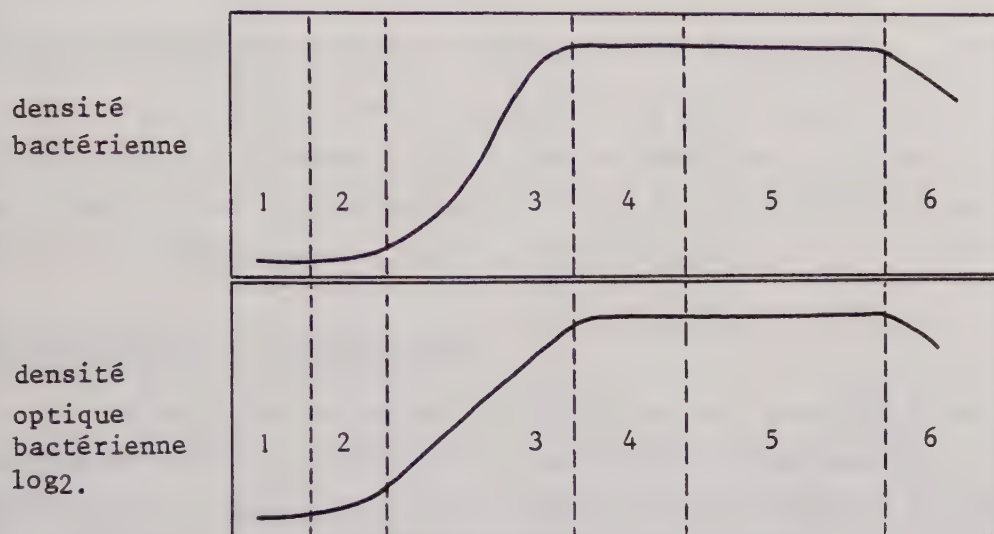
L la distance parcourue dans la suspension

C la densité microbienne

K une constante.

Différentes phases de la croissance bactérienne

La figure ci-dessous représente schématiquement en coordonnées ordinaires et semi-logarithmiques l'aspect d'une courbe de croissance d'un micro-organisme dans une culture de type habituel, ou après ensemencement à partir d'un milieu différent, la croissance se poursuit jusqu'à épuisement du milieu.



On y distingue plusieurs phases successives :

- 1 - Phase de latence ou lagphase. Le taux de croissance est nul, le rendement est égal à zéro ($R = 0$).
- 2 - Phase d'accélération. Le taux de croissance augmente. Ces phases 1 et 2 correspondent à une adaptation enzymatique au milieu de culture ou à l'âge de l'inoculum.
- 3 - Phase exponentielle. Le taux de croissance est constant et maximum ($R = Cte$)
- 4 - Phase de ralentissement. le taux de croissance diminue.
- 5 - Phase stationnaire. Le taux de croissance est nul.
- 6 - Phase de déclin. le taux de croissance est négatif.

Pour être valables, les mesures que nous réaliserons devront toujours être situées dans la phase exponentielle de croissance.

b - mise en évidence du pouvoir anti-bactérien de la salive

Matériel utilisé

- un spectrophotomètre Bausch et Lomb
- des cuves optiques Hellma en verre permettant d'utiliser un volume de lecture de 0,5 cc.
- la longueur d'onde utilisée obtenue par détermination du pic de sensibilité est $\lambda = 643\text{m}\mu$.

Conditionnement des germes - obtention d'une préculture

Afin d'éliminer la lag-phase des micro-organismes et d'obtenir une culture jeune qui permet l'adaptation enzymatique de celle-ci, des précultures de 24 heures sont préparées sur le milieu qui sera ultérieurement utilisé lors de l'expérimentation (milieu coeur-cervelle).

Préparation de la solution mère

Un faible volume de la préculture est transféré dans un Erlenmeyer contenant le milieu neuf afin de constituer la solution mère, et de telle manière que la densité optique de cette solution avoisine la valeur 1 par rapport à la solution nonensemencée.

Ceci est réalisé pour ne pas apporter trop de germes dans les galeries de mesure et pour être encore en phase de croissance exponentielle au bout de 48 heures.

Préparation des galeries de mesure

On ouvre stérilement les tubes de salive lyophilisée que l'on reconstitue avec 1/2 cc d'eau distillée stérile et dégazée. La concentration salivaire est alors de 2.

La moitié de ces tubes subit un traitement thermique à 56° C pendant une demie heure et constitue la galerie étalon.

L'autre moitié ne subit pas de traitement thermique et constitue la galerie test.

Les deux galeries sont ensuite ensemencées avec 1/2cc de solution mère (la concentration initiale de la salive est alors rétablie).

Les galeries test et étalon sont ensuite mises en incubation dans les jarres à anaérobiose pendant 48 heures à 37° C.

Lecture

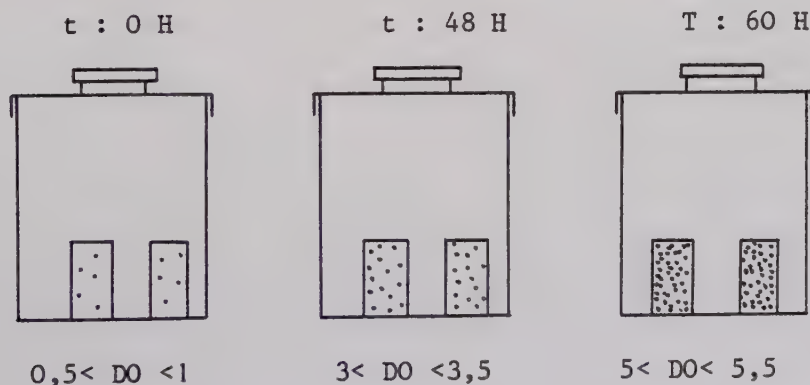
La fragilité des germes testés, l'anaérobiose imposée et le faible volume utilisé dans des mesures ne nous permet pas d'établir des courbes de croissance. Celles-ci nécessitent, en effet, des mesures fréquentes qui imposent l'ouverture répétée de l'enceinte d'anaérobiose.

L'oxygénation qui en résulte et qui persiste pendant 3 heures environ perturbe beaucoup plus la croissance des micro-organismes que les facteurs anti-bactériens éventuellement présents dans la salive.

Pour ces raisons nous avons choisi de ne déterminer qu'une valeur terminale de densité optique des solutions testées et ceci d'autant plus facilement que la détermination d'une pente rigoureuse de la courbe de croissance dans un milieu complexe est difficile à obtenir.

Ce choix nous a imposé de vérifier préalablement pour chaque micro-organisme testé que sa croissance se poursuivait bien dans les conditions d'expérience au delà de 48 heures et que les mesures n'étaient pas effectuées en phase plateau ou en phase de décroissance.

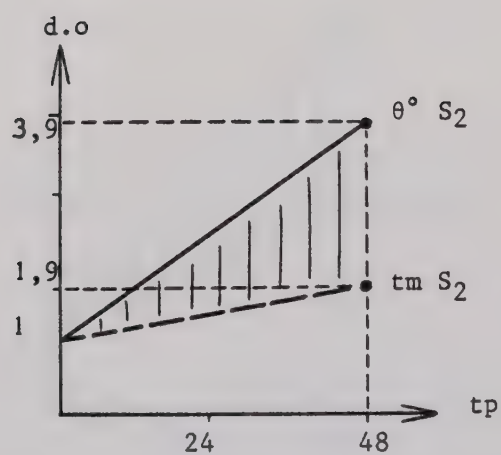
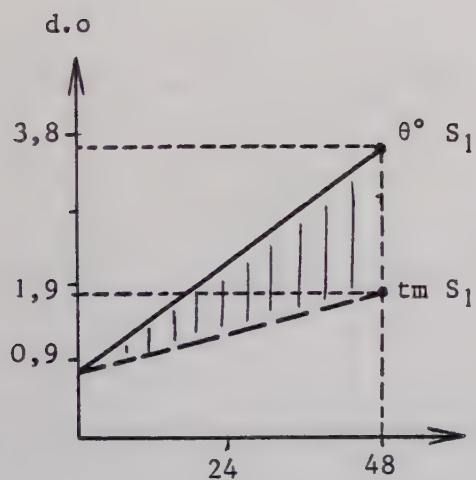
Ceci est réalisé en faisant parallèlement aux lectures une galerie témoin dans laquelle nous vérifions que la DO augmente au delà de 48 heures.



La lecture est réalisée en mesurant simultanément la densité optique de la galerie étalon et la densité optique de la galerie test, le zéro de D.O. étant réalisé sur 1/2 cc de milieu C2 nonensemencé et dilué de moitié avec de l'eau distillée. Les mesures se font au temps 0 et au temps 48 heures.

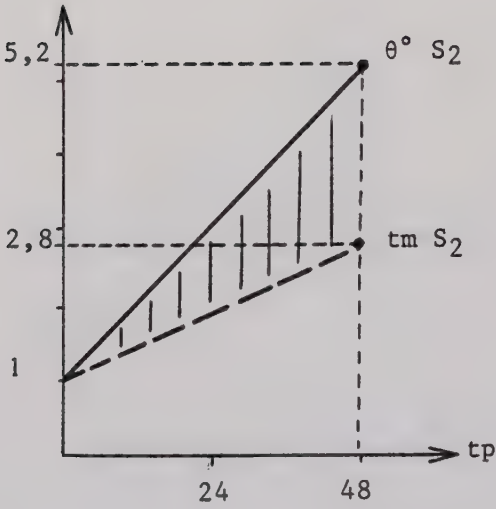
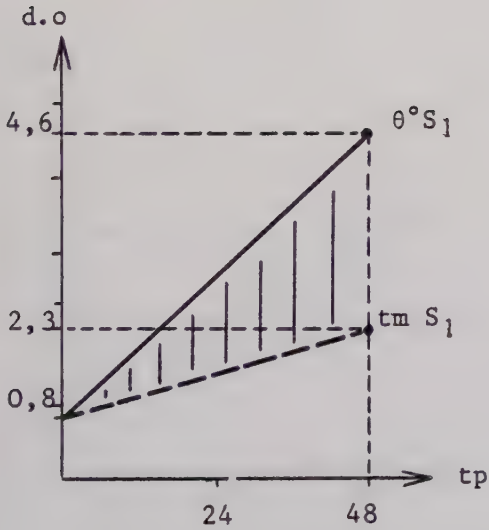
Résultats

salive	d.o tp.o	d.o θ° tp. 48h	d.o tm tp.48h
S ₁	0,9	3,8	1,9
S ₂	1	3,9	1,7



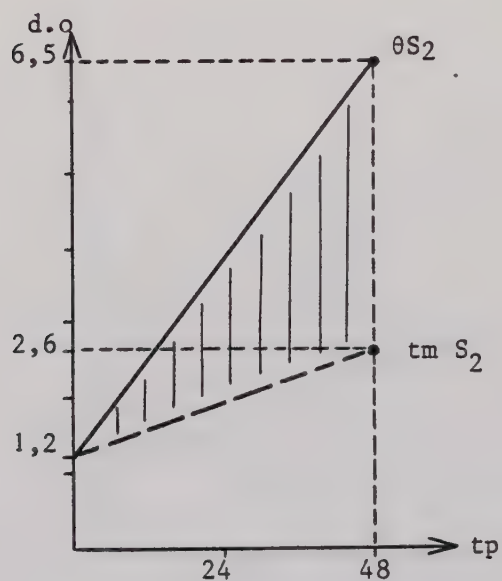
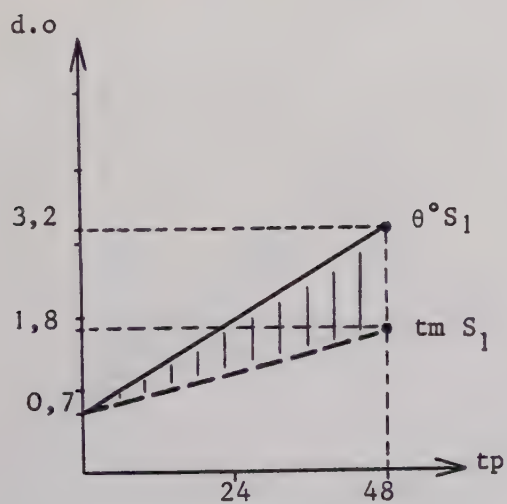
Veillonella alcalescens var syzygios

salive	d.o t.o	d.o θ° t.48 h	d.o tm t. 48h
S ₁	0,8	4,6	2,3
S ₂	1	5,2	2,8



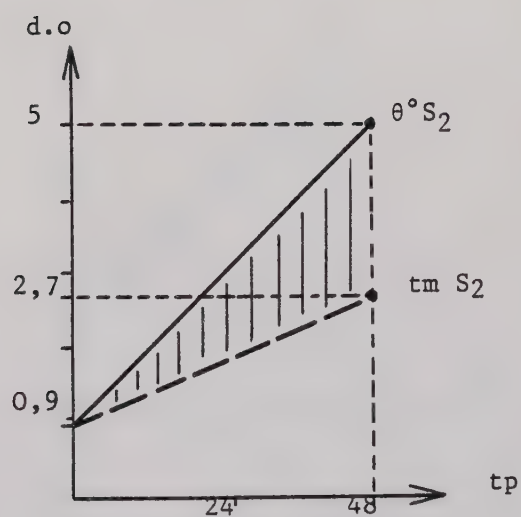
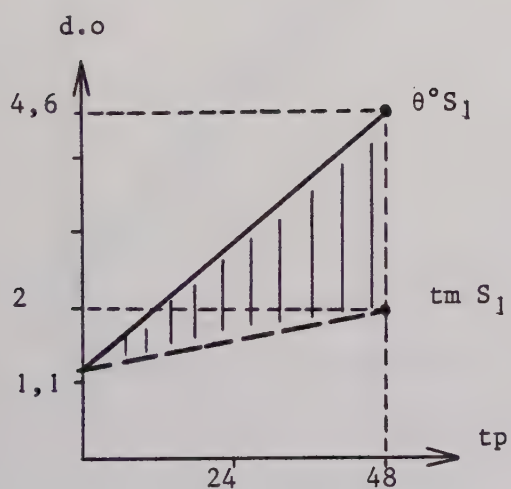
Actinobactérium israëli

salive	d.o. t.o	d.o θ° t.48h	d.o tm t.48h
S_1	0,7	3,2	1,8
S_2	1,2	6,5	2,6



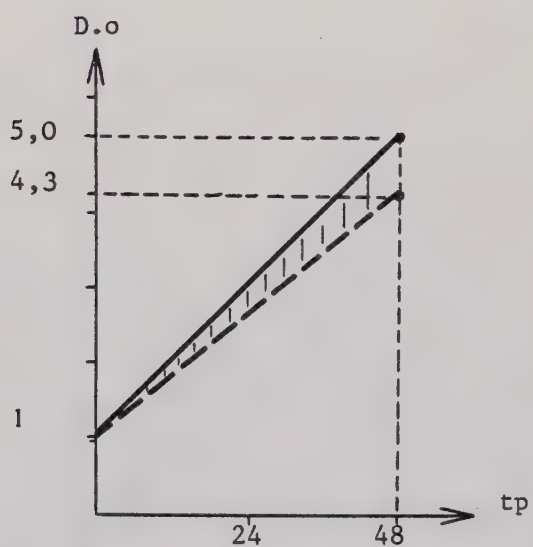
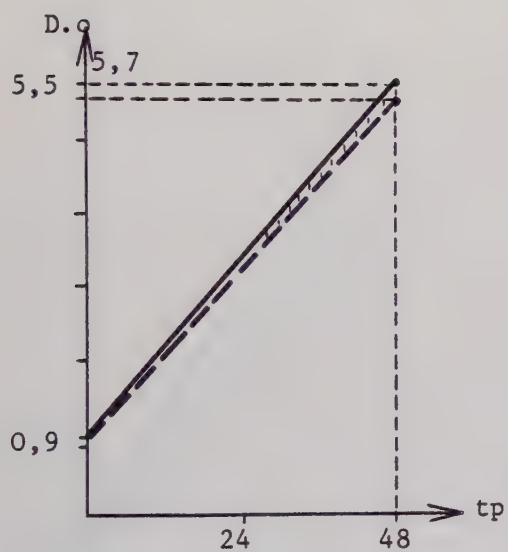
Corynebactérium anaérobium

salive	d.o t.o	d.o θ° t. 48h	d.o tm t. 48h
S_1	1,1	4,6	2,0
S_2	0,9	5,0	2,7



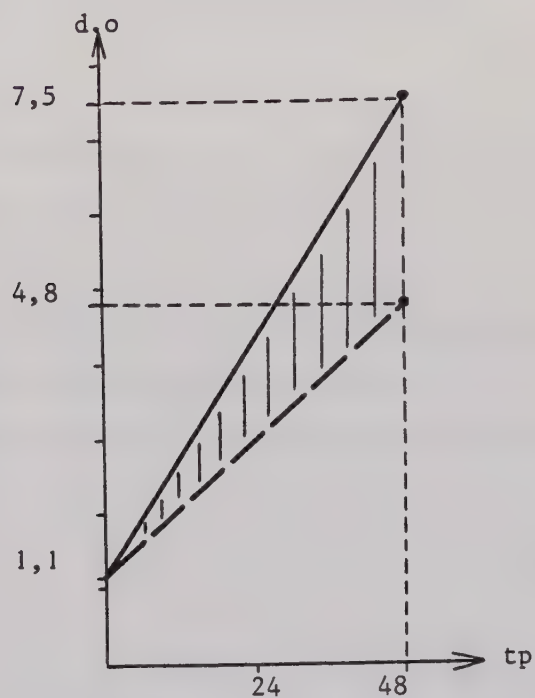
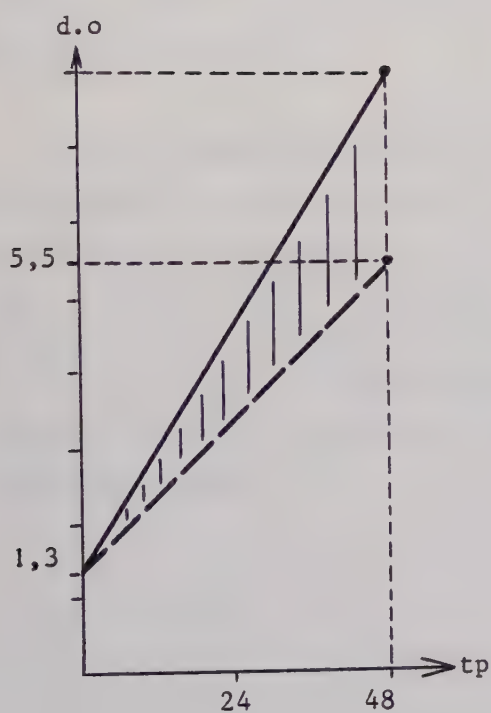
Streptococcus mutans

salive	d.o t.o	d.o θ° t. 48 h	d.o tm t. 48h
S ₁	0,9	5,7	5,5
S ₂	1	5,0	4,3



Bifidobactérium bifidum

salive	d.o t.o	d.o θ° t. 48h	d.o tm t.48h
s_1	1,3	8,0	5,5
s_2	1,1	7,5	4,8



Plectridium ovalaris

Conclusion

L'examen des différentes valeurs de densité optique montre qu'apparemment et par rapport à la salive traitée thermiquement, la salive test possède un pouvoir anti-bactérien à l'encontre de tous les germes testés à l'exception d'un seul (*Bifidobacterium*). Ce facteur anti-bactérien serait de nature protéique.

Néanmoins, devant la pluralité d'action de ce facteur agissant sur des germes de genre différent et pour certains n'ayant pas la même constitution de paroi bactérienne, on peut se poser la question de la réalité d'un tel facteur et se demander si le traitement thermique doux de la salive n'entraîne pas une dénaturation de certains de ses constituants.

Ceux-ci, s'ajoutant aux nutriments du milieu de croissance pourraient être plus rapidement utilisés par les micro-organismes que ceux contenus dans la salive non traitée.

Loin d'avoir alors un pouvoir anti-bactérien, la salive aurait, lorsqu'elle est traitée thermiquement, une action de facilitation sur la croissance bactérienne.

La comparaison de ces résultats à ceux obtenus lors des expériences de diffusion sur gélose ne permet pas d'opter pour l'inhibition ou pour la facilitation de croissance, notamment si l'on se réfère aux conclusions de KERR, et de WEDDERBURN qui notaient que cette méthode d'étude, basée sur la diffusion en phase gélosée, mettait en jeu des facteurs difficilement contrôlables. En particulier l'intensité de la phase de croissance du micro-organisme testé, la densité de l'inoculum et surtout le pouvoir de diffusion de la solution testée.

II-ACTION DE LA SALIVE EN FONCTION D'UN INDEX PARODONTAL

Le but de cette étude est de déterminer si l'action de la salive sur les micro-organismes définis antérieurement est variable en fonction d'un indice parodontal pathologique.

1 - Index parodontal

Nous avons adapté à l'étude du cas individuel l'index parodontal établi par RUSSEL, en 1967, pour des études épidémiologiques (36). Cet index est basé sur l'étude des signes cliniques des parodontolyses inflammatoires. Différentes valeurs croissantes sont attribuées à ces signes cliniques suivant leur apparition chronologique.

Score et paramètre de l'index parodontal

Score

1 : Gencive saine	Pas d'inflammation visible au niveau des tissus examinés, ni perte de fonction par destruction des tissus de soutien.
2 : gingivite superficielle, partielle : papillite	Inflammation de la gencive libre ne circonscrivant pas la totalité de la dent et touchant au moins 3 dents
3 : gingivite érythémateuse	inflammation circonscrivant la dent, mais sans rupture de l'attache épithéliale et touchant au moins 3 dents
4 : gingivite et poches parodontales en formation : parodontolyse superficielle	il y a rupture de l'attache épithéliale et formation d'une poche parodontale. La fonction de mastication reste normale, il n'y a pas de mobilité pathologique.
5 : parodontolyse mixte inflammatoire	la dent peut être absente. La percussion donne un son mat, on enregistre une mobilité axiale (mobilité IV).

2 - Technique

La salive lyophilisée est concentrée par deux, par reconstitution à l'aide d'1/2 cc d'eau distillée stérile.

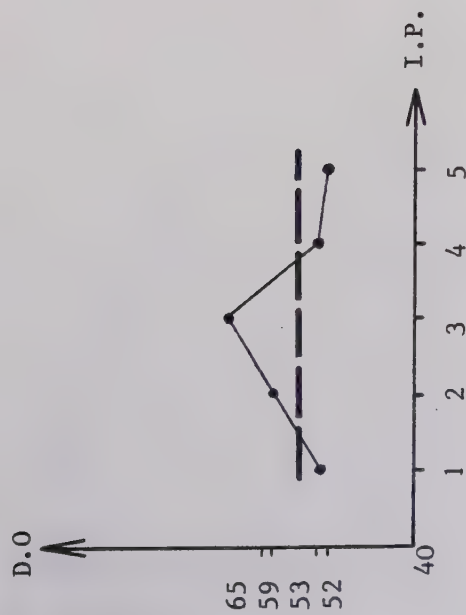
Chaque tube estensemencé avec 1/2 cc de solution mère.

Le zéro de densité optique est réalisée sur une cuve comprenant 1/2 cc d'eau distillée stérile et 1/2 cc de solution mère.

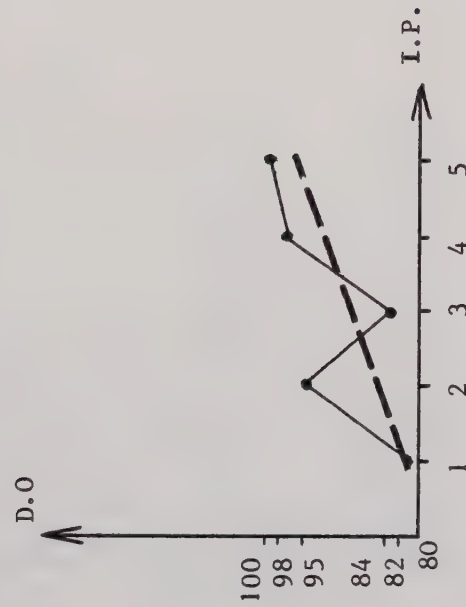
Les mesures des densités optiques terminales sont réalisées 48 heures après.

3 - Résultats

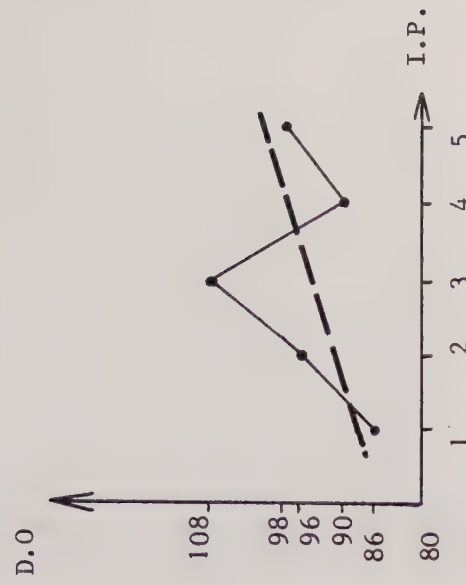
Sujets	Veillon.	Plectri.	Actyno.	Strepto.	Bifido.	Coryné.
IP	DO	DO	DO	DO	DO	DO
1	53	82	86	165	120	44
2	59	95	96	158	130	38
3	65	84	108	160	120	34
4	53	98	90	145	112	36
5	52	100	98	154	122	44



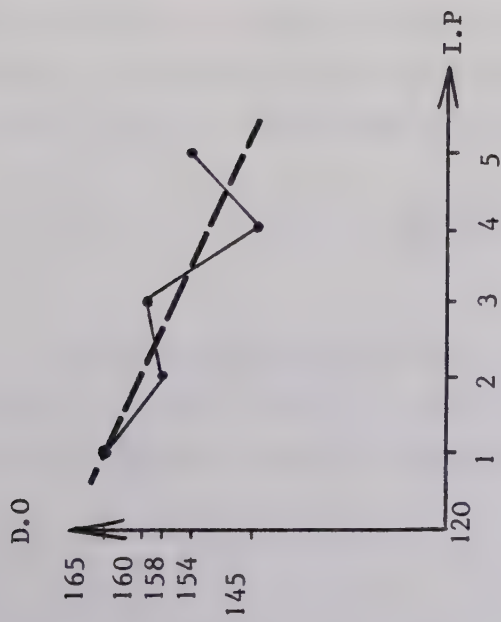
Veillonella alcalescens var *syzygios*



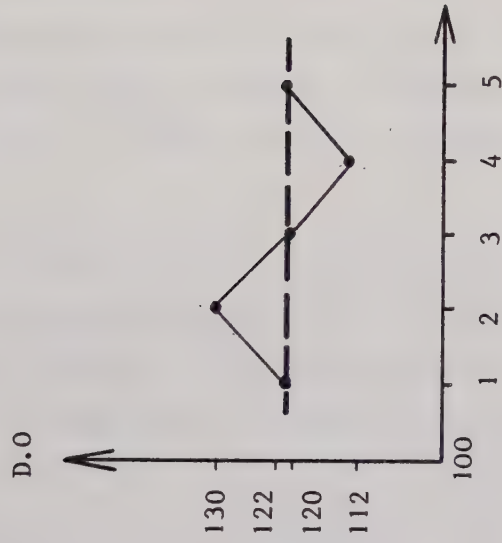
Plectridium ovalaris



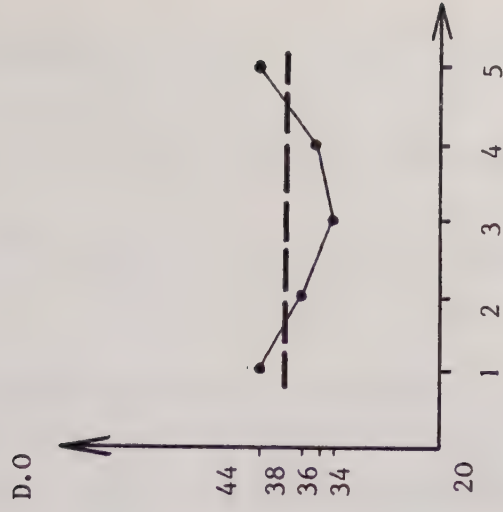
Actinobacterium israeli



Streptococcus mutans



Bifidobacterium bifidum



Corynebacterium anaerobium

4 - Conclusions

A l'examen des courbes établies, nous retiendrons plusieurs faits :

a/ il n'existe pas d'action anti-bactérienne générale de la salive en raison inverse de l'indice parodontal étudié.

b/ il semblerait que pour les germes du genre Veillonella et Actinomyces, cette action soit sensible et décroissante jusqu'à un stade superficiel de la maladie (stade 3). Puis que curieusement, elle soit renforcée au moment même où les conditions de pousse des micro-organismes anaérobies deviennent les meilleures (existence de poches parodontales) alors que cette action devrait être logiquement la plus faible.

c/ que pratiquement pour tous les micro-organismes étudiés à l'exception du genre Plectridium, une des valeurs de croissance les plus basses a été obtenue lors du contact avec la salive d'un sujet ayant un indice pathologique parmi les plus élevés. (Il est à noter que ce sujet est le plus âgé du groupe étudié).

d/ que la valeur de croissance des souches des genres Veillonella, Bifidobacterium et Corynebacterium est pratiquement identique, que ces germes se développent dans la salive d'un individu immun ou dans celle d'un sujet présentant l'indice pathologique le plus élevé. La pente générale de la courbe est alors voisine de zéro.

e/ que dans les cas du Streptococcus mutans, micro-organisme que l'on s'accorde à considérer actuellement comme un germe primordial dans le développement des caries, la tendance est complètement inversée, la pente de la courbe devient négative et ce sont les sujets les plus soumis à l'agression parodontale qui inhibent le mieux la croissance de ce germe cariogène. Il est curieux de rencontrer une nouvelle fois cet antagonisme entre carie et parodontolyse.

f/ que la pente de la courbe est nettement positive pour deux germes :

- Plectridium ovalaris qui n'est pas un saprophyte de la cavité buccale et qui ne peut donc avoir aucune incidence dans le développement ou l'entretien des parodontolyses inflammatoires.

- Actinobacterium israeli surtout retrouvé au sein des poches parodontales en association avec les germes du genre Corynebacterium.

Remarque :

Il est à noter que le sujet n° 4 présentant un score anti-bactérien et un index parodontal élevé est le sujet le plus âgé de l'échantillon. Il n'est pas impossible que lors de la sénescence et en raison des perturbations occluso-fonctionnelles qui en découlent le plus souvent, les parodontolyses se développent par elles-mêmes et que leurs causes initiales microbiennes soient reléguées au second rang.

VIII - CONCLUSIONS GENERALES

1° - Les résultats obtenus par la technique des antibiogrammes salivaires ne nous permettent pas de conclure à l'action anti-bactérienne de la salive sur les micro-organismes anaérobies testés.

2° - La croissance de ces micro-organismes est différente lorsque ceux-ci sont cultivés en présence de salive non traitée thermiquement ou ayant subi un traitement thermique à 56° C.

3° - Il est impossible dans les conditions de l'expérience de postuler pour une inhibition ou pour une facilitation salivaire de la croissance bactérienne.

4° - Aucune différence significative de croissance n'est retrouvée en fonction d'un indice parodontal pour Veillonella alcalescens (var. syzygios) Bifidobacterium bifidum et Corynebacterium anaerobium.

La croissance de Plectridium ovalaris et d'Actinobacterium israëli augmente en raison de l'indice parodontal du sujet et en raison inverse pour Streptococcus mutans.

Cette absence de conclusion positive nous invite à poursuivre cette expérimentation en étudiant, non plus la croissance des micro-organismes mais leur catabolisme osidique ou protidique en présence de salive.

Le Président de la Thèse

A. BERTOYE

Vu, le Directeur de
l'U.E.R. des Sciences Odontologiques

R. VINCENT

Vu et permis d'imprimer
Lyon, le 13 juillet 1977

Le Président de l'Université Claude-
Bernard LYON I
Président du Comité de Coordination
des Etudes Médicales

D. GERMAIN

BIBLIOGRAPHIE

1 - BERGER J.

L'appareil de SOHIER R., à prélèvement salivaire.
Rev. Stomato. Août 1969, 41, 630.

2 - BRABANT H.

Salive in Ions alcalinoterreux.
Berlin 1964. Springer Verlag. Edt. 474 - 678.

3 - BRANDTZAEG P.

Hidden antigenic determinant in secretory immuno-globulin A.
Nature, 1968, 220, p. 292-293.

4 - BRANDTZAEG P.

Structure, Synthesis and external Transfer of mucosal immunoglobulins.
Ann. Immunol. Inst. Past. 1973, 124, p. 417-438.

5 - BRANDTZAEG P.

Synthesis and Secretion of secretory immunoglobulins : with special
reference of Dental Disease.
J. Of Period. Res. 1976, 55 sp. C C 102 à C 112.

6 - CARLIER G., HAVEZ R., CARLIER Cl.

Revue de stoma. 68, 1967, n° 2, P. 117 à 132.
Protéines et glycoprotéines salivaires.

7 - CARTIER A.

Thèse Paris 1947.

8 - CHARLES J.

Equilibre acido-basique salivaire et carie dentaire.

Thèse 3è cycle. Orléans 1969.

9 - CLEM W.H., and KEBANOFF S.J.

Inhibitory effects of saliva on glutamic acid accumulation by lactobacillus acidophilus and the role of the lactoperoxidase-thiocyanat system.

J. Bact. 91 (5) : 1848 - 1853 May 66.

10 - DAWSON CE and BLAGG W.

The effect of human saliva on the cholera vibrio in vitro.

J. Dr. 28, 547-555, 1948.

11 - DAWSON C.E. and BLAGG W.

Further studies on the effect of human saliva on the cholera vibrio in vitro.

J.D.R. Ap. 50, 240-254, 1950.

12 - DECHAUME M., GOGEL S., POUILLAIN P.

Revue de stomatologie n° 1, Janv. 1950, p. 523.

13 - DECHAUME M. et Coll.

Revue de stomato. T 51, N° 8-9, 525, 1950.

14 - DOGON I.L., KERR A.C. and AMDUR B.H.

Characterization of an antibacterial factor in human parotid secretions, active against lactobacillus casei.

Arch. Ora. Biol. Vol. 7, p. 81-90, 1962.

15 - DOGON I.L. and AMDUR B.H.

Evidence for the presence of two thiocyanate-dependent antibacterial systems in human saliva.

Arch. Oral. Biol. Vol. 15, 987-992, 1970.

16 - DOLD U., WEIGMAN

Über die wirkung des menschlichen speichels auf diphtheriebazillen.

Zschr. Hyg. T. 116-1934.

17 - DUBOIS - PREVOST

Le lysozyme de Fleming. Applications diététiques.
Méd. et Hyg. 1963, 615, 953-955.

18 - DWYER D. M. and SOCRANSKY S.S.

Predominant cultivable microorganisms, inhabiting periodontal pockets
Brit. Dent. J. 124 - 560, 1968.

19 - GIBBONS R.J., STOPOLAAR J.D. and HARDEN L.

Lysozyme Insensitivity of bacteria indigenous to the oral cavity of man.
J.D.R. 45, 3, part 2, 877-880, 1966.

20 - GREEN G.E. 1959

A bacteriolytic agent in salivary globulin of carie immune human
beings.
J.D.R. 38, 262-275, 1959.

21 - HALPERN M.S., KOSHLAND M.E.

Novel subunit in secretory IgA.
Nature 1970, 228, p. 1276-1278.

22 - HAMMOND C.W. and WEINMANN J.P.

Opsonin in saliva.
J. Dent. Res. 1942, 21, p. 219.

23 - ITO Y.

La parotine, un nouveau principe actif des glandes salivaires.
R. de Stoma. 1964, 65, 272.

24 - KAZVO I.

Bacteries anaerobies des poches parodontales.
Dental Abstracts.

25 - KERR A.C. and WEDDERBURN D.L.

Antibacterial factors in the secretion of human parotid and submaxillary
glands.
Brit. D.J. 105, 321, 1958.

26 - KESSEL, KIRCH and WOLDRING

J.D.R. 26, 297.

27 - KLETZINSKY

Arch. Phy. U. Path. Chem. T 5, 172, 1952.

28 - KNORR

Keimschädigende stoffe (bakterionoxine) im mundspecial.
Arch. Hyg. T. 126, p. 59, 1941.

29 - KOPACZEWSKI W.

Paris Médical, 35, 141, 1937.

30 - KRASNOW

J.D.R. 24, 319, 1945.

31 - KRAUS F. W.

Microbiology of the oral cavity and its systematic signifiance.
Dental. Clin. North. Ame. 2, p. 309, 1958.

32 - MAC LURE F.

J. Am. J. Dis. Chil. 1941, 62, 512.

33 - MELNIK et NATANSON

Le lysozyme dans la maladie des yeux.
Bul. Inst. Metchnikoff T. II n° 1, p. 47, 1935.

34 - ORSTAVIK D. and BRANDTZAEG P.

Secrétion of Parotid IgA in relation to gingival inflammation and
dental caries in Man.
Arch. Oral. Biol. 20, p. 701, 1975.

35 - PERRET

Microbiologie bucco-dentaire.
1964, Impr. Cret. CORBEIL.

36 - RUSSELL A.L.

The periodontal index.
Jour. Of Periodont. 38, n° 6, part II, 13/585, 19/591.

37 - SANARELLI G.

Der menschliche spechel u die pathogenen mikro-organismen der mund
höhle.
Zbl. Bakt. Iorig T.X. 819, 1891.

- 38 - SHANNON IL and SUDDICK R.P.

Effects of light and darkness on human parotid salivary flow rate and chemical composition.

Archs. Oral. Biol. 18, 601-608, 1973

- 39 - SOCRANSKY S.S., GIBBONS R.J. and Coll.

The microbiota of the gingival crevice of man.

I : total microscopic and viable counts of specific organisms.

Arch. Oral. Biol. 8 : 275, 1963.

- 40 - SOHIER R., NARBONNE A.

Procédé simple et rapide de prélèvements de la salive parotidienne.

Applications pratiques.

C.R. Soc. Biol. 1939, 131-881.

- 41 - SUGG J.Y., NEILL J. M.

Loss of immune substances from the body II diphterin antitoxin in human saliva.

J. Immunol.; 1931, 20, p. 263.

- 42 - TOMASI T.B., ZIGELBAUM S.

The selective occurrence of gamma A globulins in certain body fluids.

J. Clin. Invest. 1963, 42, p. 1552.

- 43 - TOMASI T.B., BIENENSTOCK J.

Secretory Ig. Ad. Immunol. 1968, 9, p. 1-96.

- 44 - VALUDA

Compét-rendu du congrès de tuberculose.

Paris, p. 258, 1888.

- 45 - YOON - Se - HANG, CALVINICO N.J., TOMASI T.B.

Human J. Clain Isolation and molecules weight studies.

J. Immun. 1974, 112, p. 162-167.

- 46 - ZELDOW B.J.

Studies on the antibacterial action of human saliva.

I A : bactericidin for lactobacilli

J.D.R. 38, 798-804, 1959.

47 - ZELDOW B.J.

Studies on the antibacterial action of human saliva.

J.D.R. 38, n° 4, 1959.

48 - ZELDOW B.J.

Antibacterial activity of mixed and parotid human saliva.

A Preliminary report.

J.D.R. 34, 737, 1955.

MARCILLY (Alain). — Contribution à l'étude du pouvoir anti-bactérien de la salive humaine / par Alain MARCILLY, - (S.L.) : (S.n.), 1977. — 70 f. : ill. : graph. ; 30 cm. — (Thèse : 3^e cycle : Sci. odontol. : Lyon : 1977)
n° 43.12.77.03

Rubrique de classement : MICROBIOLOGIE

Mots clés : Salive
micro-organismes anaérobies
croissance bactérienne
indice parodontal

43.12.77.03

MARCILLY (Alain). — Contribution à l'étude du pouvoir anti-bactérien de la salive humaine. (Thèse : 3^e cycle : Sci. odontol. : Lyon : 1977)
n° 43.12.77.03

Après un rappel sur la salive humaine (propriétés physiques, composition chimique et rôles de la salive, notamment anti-bactérien) son pouvoir anti-bactérien est testé dans un premier temps, sur six micro-organismes comprenant cinq souches anaérobies strictes et une souche aérobie-anaérobie facultative, par une méthode de diffusion sur phase gélosée et par une méthode opacimétrique en phase liquide.

Dans un second temps, la croissance de ces micro-organismes cultivés dans un milieu liquide contenant de la salive, est mesuré en fonction d'un index pathologique parodontal.

MeSH : SALIVA
ANAEROBIC MICRO-ORGANISMS
BACTERIAL GROWTH
PARODONTAL INDEX

JURY : Président : M. le Professeur André BERTOYE
Assesseurs : M. le Professeur Jacques DUMONT
M. le Professeur Henry MAGLOIRE

(Le nom souligné indique le Directeur de la Thèse)

Adresse de l'auteur : A. MARCILLY
15, rue Vendôme - 69006 LYON

MARCILLY (Alain). — Contribution à l'étude du pouvoir anti-bactérien de la salive humaine / par Alain MARCILLY, - (S.L.) : (S.n.), 1977. — 70 f. : ill. : graph. ; 30 cm. — (Thèse : 3^e cycle : Sci. odontol. : Lyon : 1977)
n° 43.12.77.03

Rubrique de classement : MICROBIOLOGIE

Mots clés : Salive
micro-organismes anaérobies
croissance bactérienne
indice parodontal

43.12.77.03

MARCILLY (Alain). — Contribution à l'étude du pouvoir anti-bactérien de la salive humaine. (Thèse : 3^e cycle : Sci. odontol. : Lyon : 1977)
n° 43.12.77.03

Après un rappel sur la salive humaine (propriétés physiques, composition chimique et rôles de la salive, notamment anti-bactérien) son pouvoir anti-bactérien est testé dans un premier temps, sur six micro-organismes comprenant cinq souches anaérobies strictes et une souche aérobie-anaérobie facultative, par une méthode de diffusion sur phase gélosée et par une méthode opacimétrique en phase liquide.

Dans un second temps, la croissance de ces micro-organismes cultivés dans un milieu liquide contenant de la salive, est mesuré en fonction d'un index pathologique parodontal.

MeSH : SALIVA
ANAEROBIC MICRO-ORGANISMS
BACTERIAL GROWTH
PARODONTAL INDEX

JURY : Président : M. le Professeur André BERTOYE
Assesseurs : M. le Professeur Jacques DUMONT
M. le Professeur Henry MAGLOIRE

(Le nom souligné indique le Directeur de la Thèse)

Adresse de l'auteur : A. MARCILLY
15, rue Vendôme - 69006 LYON